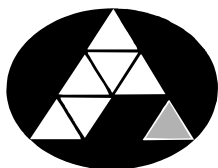


POHJOIS-KARJALAN AMMATTIKORKEAKOULU
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Antti Juuti
Toni Mononen

VAKUUMI- JA AVONÄYTTEENOTTOTEKNIIKAN VÄLISET EROT
SEERUMIN IONISOITUNEEN KALSIUMIN MÄÄRITYKSEN TU-
LOKSISSA

Opinnäytetyö
Lokakuu 2012



POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

OPINNÄYTETYÖ
Lokakuu 2012
Bioanalytiikan koulutusohjelma

Tikkarinne 9
80220 JOENSUU
p. (013) 260 6600

Tekijät

Antti Juuti, Toni Mononen

Nimeke

Vakuumi- ja avonäytteenottotekniikan väliset erot seerumin ionisoituneen kalsiumin määrittämisen tuloksissa

Toimeksiantaja

Itä-Suomen laboratorokeskuksen liikelaitoskuntayhtymä (ISLAB)

Tiivistelmä

Seerumin ionisoitunut kalsiumpitoisuus määritetään usein epäiltäessä lisäkilpirauhasen ja munuaisten toimintahäiriöitä, tai luustosairauksia. Tutkimusta käytetään myös hoidon seurannassa. Seerumin kalsiumioninäytteen ottamiseen suositellaan vakuuminäytteenottotekniikkaa, koska näyte on herkkä avonäytteenottotekniikasta aiheutuville muutoksille.

Vakuuminäytteenottotekniikassa näyteputken alipaine voi aiheuttaa ongelmia näytteen saamiseen. Se voi esimerkiksi imeä suonen seinämän neulankärkeen tukkien sen. Avotekniikkaa käytettäessä veri virtaa neulan lävitse vapaasti, joten tällaisia ongelmia ei kohdata. Ongelmana aerobisen avonäytteenottotekniikan käytössä on kuitenkin pH-arvojen muutokset, joista seerumin kalsiumionipitoisuus on riippuvainen.

Tutkimuksessa vertailtiin vakuumi- ja avonäytteenottotekniikan välisiä eroja seerumin ionisoituneen kalsiumin mittaustuloksissa. Työssä tutkittiin myös avonäyteputken jäähdyttämisen vaikutusta tuloksiin. Näytteet otettiin bioanalytiikko-opiskelijoilta ja ne määritettiin toimeksiantajana toimineen ISLABin Joensuun kemian laboratorion Rapidlab 1265 -verikaasuanalysaattorilla.

Käytetyllä tutkimusasettelulla ja otosjoukolla todettiin vertailtujen tekniikoiden välisten erojen olevan hyvin pieniä. Tämän tutkimuksen perusteella avonäytteenottotekniikka on käyttökelpoinen analysoitaessa seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta. Avonäyteputken jäähdyttämisellä ei huomattu olevan vaikutusta.

Kieli
suomi

Sivuja 37
Liitteet 6
Liitesivumäärä 8

Asiasanat

kalsiumioni, kalsium, menetelmävertailu



NORTH KARELIA
UNIVERSITY OF APPLIED SCIENCES

THESIS

October 2012

Degree Programme in biomedical sciences

Tikkarinne 9

FIN 80220 JOENSUU

FINLAND

Tel. 358-13-260-6600

Authors

Antti Juuti, Toni Mononen

Title

Differences in Measured Ionized Calcium Concentration of Serum between Anaerobic and Aerobic Sample Collection Methods

Commissioned by

Eastern Finland Laboratory Centre Joint Authority Enterprise (ISLAB)

Abstract

The ionized calcium concentration of the serum is often determined when a bone disease or dysfunction of the parathyroid gland or kidneys is suspected. This analysis is also used when the progress of the treatment is monitored. An anaerobic method is recommended when calcium ion samples are taken, because the sample can easily be affected when taken under aerobic conditions.

The under pressure in the test tube may cause problems in sample collection if anaerobic method is used. It may, for example, block the tip of the needle by absorbing the vein in it. On the contrary, when the aerobic method is used, the blood flows freely through the needle freely. However, it is problematic that the application of the aerobic method results in changes in pH values, which in turn affects the calcium concentration of the serum.

In this study the differences between the anaerobic and aerobic methods were compared in the test results of the ionized calcium. It was also studied if the cooling of the aerobic test tubes had an effect on the results. The samples were collected from biomedical science students and they were assayed by the Rapidlab 1265 -blood gas analyzer in the Clinical Chemistry Laboratory of the commissioning organisation in Joensuu.

In this research frame and study population the differences between the compared methods were small. Based on this study, aerobic method is practical when the ionized calcium concentration of the serum is analyzed. The cooling of the test tube, on the other hand, did not seem to have an effect on the sample.

Language

Finnish

Pages 37

Appendices 6

Pages of Appendices 8

Keywords

ion, calcium, method comparison

Sisältö

Tiivistelmä

Abstract

1	Johdanto	5
2	Kalsium elimistössä	6
2.1	Kalsiumin tehtäviä.....	6
2.2	Kalsiumin saanti ja elimistöön imeytyminen.....	7
2.3	Kalsiumtasapainon säätely	8
2.4	Ionisoituneen kalsiumin määrittämiseen johtavia syitä.....	10
2.5	Kliininen merkitys.....	10
3	Laboratoriotutkimusprosessi kalsiumionitutkimuksessa.....	12
3.1	Preanalytiikka ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä.....	12
3.2	Ionisoituneen kalsiumin analyysimenetelmä	14
3.3	Ionisoituneen kalsiumin postanalytiikka	15
3.4	Laadunvarmistus kliinisessä laboratoriotöinnässä	16
4	Opinnäytetyön tarkoitus	18
5	Tutkimuksen toteutus.....	18
5.1	Kvantitatiivinen tutkimus	18
5.2	Kalsiumioninäytteiden otto, säilytys ja kuljettaminen	19
5.3	Kalsiumioninäytteiden analysointi	20
5.4	Toimintaympäristö	21
6	Tutkimustulosten analyysimenetelmät	22
7	Tulokset	23
8	Pohdinta.....	26
8.1	Tulosten tulkinta.....	26
8.2	Opinnäytetyön luotettavuus	28
8.3	Opinnäytetyön eettisyys.....	30
8.4	Johtopäätökset	32
8.5	Jatkotutkimusaiheet	34
8.6	Opinnäytetyö oppimisprosessina	34
	Lähteet.....	35

Liitteet

Liite 1	Opinnäytetyön toimeksiantosopimus
Liite 2	Tutkimuslupahakemus
Liite 3	ISLABin verikaasuanalysaattoreilla tehtävien potilasvertailujen ja AQC-kontrollien rajat
Liite 4	ISLABin käytössä olevien verikaasuanalysaattoreiden kontrolliverailu
Liite 5	Tulostaulukot
Liite 6	Kopio laboratoriopäiväkirjaan kirjatusta tuloksista

1 Johdanto

Ionisoitunut kalsium on yksi tärkeimmistä elimistön toimintaan vaikuttavista kivennäisaineista. Se toimii elimistössä luuston rakentajana, laajasti hermoston viestinvälittäjänä ja yhtenä tärkeänä verenhyytymistapahtumaan vaikuttavana tekijänä. Kalsiumin liiallisella tai liian vähäisellä pitoisuudella voi olla elimistön toimintaan erittäin haitallisia vaikutuksia. (Freese & Voutilainen 2012, 136–137.) Pääasiallisimmat syyt kalsiumin määrittämiseen ovat lisäkilpirauhasen ja munuaisten toimintahäiriöt sekä luustosairauksien diagnosointi ja seuranta. Myös tietyt syöpätaudit aiheuttavat kalsiumin tasapainoon vaikuttavia hormonaalisia muutoksia. (Saha 2001, 405–407.) Kalsiumionitutkimukseen käytettävä näyte suositellaan otettavaksi vakuuminäytteenottotekniikalla.

Usein kuitenkin kohdataan tilanne, jossa laskimoverinäytteenotto on vakuuminäytteenottotekniikalla erittäin haastavaa tai jopa lähes mahdotonta. Näyteputkessa oleva alipaine saattaa imeä suonen seinämän kiinni neulan kärkeen, jolloin näytettä ei saada. Osalla potilaista suonet voivat olla niin hauraat, että ne rikkoutuvat imun vaikutuksesta. Toisinaan näytettä saadaan niin pieni määrä, että näyteputkessa oleva lisääntynyt ylimäärä pilaa näytteen. Avonäytteenottotekniikan käyttämisessä ei ole näitä ongelmia. Avonäytteenottotekniikalla näytteitä voitaisiin ottaa myös pienempiin mikroputkiin, jolloin pienemmätkin näytemäärät olisivat riittäviä. (Lehto, Rautajoki & Tuokko 2008, 49.)

Ongelmana avonäytteenottotekniikassa on kuitenkin verinäytteen kehon ulkopuolella jatkuva metabolia. Vapaan ionisoituneen kalsiumin pitoisuus on voimakkaasti riippuvainen veren pH:sta. Avonäytteenottotekniikkaa käytettäessä veren hiilidioksidi pääsee karkaamaan, jolloin pH nousee. Tämän seurauksena kalsiumionien kiinnittyminen proteiineihin lisääntyy, ja ne muodostavat helpommin komplekseja eri aineiden kanssa. Mitattavissa olevan vapaan kalsiumin pitoisuus siis pienenee. (Endres & Rude 1999, 1396.)

Opinnäytetyössä tutkittiin, kuinka avonäytteenottotekniikalla otettu kalsiumioni-näyte poikkeaa tuloksiltaan vakuuminäytteenottotekniikalla otetusta näytteestä. Työssä vertailtiin avonäytteenottotekniikan osalta myös näytteen käyttäytymistä, kun se otetaan huoneenlämpöiseen ja viilennettyyn näyteputkeen. Opinnäytetyö tehtiin toimeksiantona Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän (ISLAB) Joensuun klinisen kemian aluelaboratoriolle.

2 Kalsium elimistössä

2.1 Kalsiumin tehtäviä

Luusto toimii elimistön pääasiallisena kalsiumin varastointipaikkana sitoessaan ja luovuttaessaan kalsiumia elimistön tarpeiden mukaisesti. Kalsium on kuitenkin myös tärkeä tekijä luuston rakentamisessa ja vahvistamisessa. Luustoa lujittaessaan kalsium muodostaa yhdessä fosfaatin kanssa hydroksiapaattikiteitä. (Freese & Voutilainen 2012, 134–136.)

Kalsium on mukana solujen välisessä viestinnässä. Esimerkiksi entsymaattisesti ATP-molekyylistä solun proteiiniin siirrettävä negatiivisesti varautunut fosfaattiryhmä voi vaikuttaa proteiinin biologiseen toimintaan muuttamalla sen kolmiulotteista rakennetta. Kalsiumioni (Ca^{2+}) voi tällöin varauksellaan kumota fosfaattiryhmän aiheuttaman rakenteellisen muutoksen ja aiheuttaa soluun elimistön kannalta parhaan mahdollisen toiminnon. (Bjålie, Haug, Sand, Sjaastad & Toverud 2011, 75–76.)

Suoranaisen solunsisäisen viestinnän lisäksi kalsiumioni osallistuu natriumin tavoin lihassolujen aktiopotentiaalin säätelyyn. Aktiopotentiaalilla tarkoitetaan ionien solujen sisä- ja ulkopinnoille aiheuttamaa varauksellista muutosta, joka aiheuttaa lihaskudoksen supistumisen ja rentoutumisen. Kalsium on kuitenkin natriumia hitaampi, mutta pitkävaikutteisempi aktiopotentiaalin säätelijä. Solun pintaan vaikuttaessaan kalsium avaa myös solun kalsiumionikanavia, jolloin kalsiumionit pääsevät virtaamaan solun sisälle ja osallistumaan sen sisäisiin prosesseihin. Kalsiumioni säätelee erityisesti sydänlihaks- ja sileälihassolujen toimintaa. (Bjålie ym. 2011, 75–76.)

Kun hermopäätteet depolarisoituvat aktiopotentiaalin saavuttaessa aksonipäätteen, kalsiumionikanavat avautuvat. Tällöin kalsiumionien virtaus vapauttaa liitoksen synapsirakoon asetyylikoliinia, joka kiinnittyy postsynaptiseen kalvoon omiin reseptoreihinsa aiheuttaen natriumkanavien aukeamisen. Natriumin virtaus kalvon toiselle puolelle depolarisoi solun, jolloin lihas supistuu. (Koivu 2006, 388–389.)

Veren hyytymisjärjestelmässä, aiemmin hyytymistekijä IV:ksi kutsuttu, ionisoitunut kalsium toimii hyytymistekijöiden aktivoijana. Plasmassa hyytymistekijät kiertävät inaktiivisina, kunnes kiinnittyvät vauriokohtaan aktivoituen, ja käynnistävät hyytymisen. (Lassila 2007, 37.)

2.2 Kalsiumin saanti ja elimistöön imeytyminen

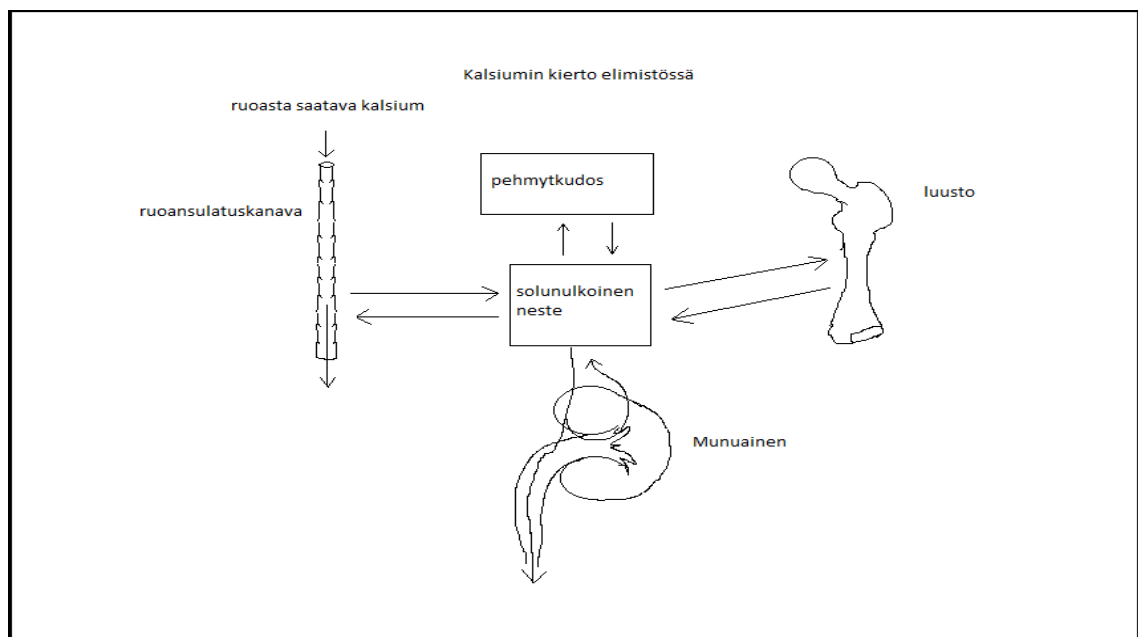
Kalsiumin parhaimpina saantilähteinä pidetään maitovalmisteita, viljavalmisteita, liha- ja kananmunaruokia sekä sisäelimistä valmistettuja ruokia. Saantisuositus päivittäin ihmisellä on noin 1 g vuorokaudessa. (Mutanen & Voutilainen 2005, 189.) Kalsiumia saadaan parhaiten maitotuotteista, koska niistä kalsium imeytyy huomattavasti paremmin kuin muista ruoka-aineista saatu kalsium. Maito ei sisällä niin paljoa kalsiumin imeytymistä estäviä aineita kuin esimerkiksi kasvikunnan tuotteet. Maitotuotteisiin on usein lisätty kalsiumia ja D-vitamiinia. Ylimäärä kalsiumia maitotuotteissa takaa riittävän saatavuuden, ja D-vitamiini tehostaa imeytymistä. Myös kalat ovat hyviä kalsiumin lähteitä. Kasvikunnan tuotteet sisältävät kalsiumia vähän, ja elimistö hyödyntää niistä saatavaa kalsiumia heikommin, koska ne sisältävät imeytymistä heikentäviä yhdisteitä, kuten papujen sisältämä fytaatti. (Freese & Voutilainen 2012, 132–134.)

Kalsiumin imeytyminen tapahtuu vaihteittain. Imeytymisprosessi voidaan jakaa passiiviseen ja aktiiviseen vaiheeseen. Imeytymisprosessin alussa kalsium pilkkoutuu vatsahapon toimesta vapaaseen muotoon eli kalsiumioneiksi. Aktiivisessa vaiheessa kalsiumin kuljettajana toimivan CaBP-proteiinin (calcium binding protein) pitoisuus epiteelisoluissa säätyy homeostaattisesti elimistön kalsiumin tarpeen mukaan. CaBP-proteiinin synteesiä stimuloi kalsitrioli, joka on D-vitamiinin aineenvaihduntatuote. Aktiivisen imeytymisen tullessa saturaatioti-

laan, eli elimistön kalsiumin tarpeen tyydyttyessä, imeytyminen muuttuu passiiviseksi. Passiivisessa vaiheessa ionisoitunut kalsium imeytyy ohutsuolen alkuosan ionikanavien kautta sitoutuen CaBP-kuljettajaproteiiniin, joka tehostaa kalsiumin imeytymistä. (Mutanen & Voutilainen 2005, 190.)

2.3 Kalsiumtasapainon säätely

Täysikasvuisen ihmisen kalsiumista noin 99 % esiintyy luustossa ja hampaissa ja 1 % solunulkoisessa nesteessä. Verenkierrossa kalsiumia on 0,2 %, ja se esiintyy kolmessa eri muodossa: proteiineihin sitoutuneena 40 % (josta 4/5 sitoutuneena albumiiniin ja 1/5 globuliiniin), kompleksoituneina yhdisteisiin 10 % (sitraatti, laktaatti, bikarbonaatti) ja ionisoituneena 50 %. (Endres & Rude 1999, 1395–1396.)



Kuva 1. Kalsiumin kierto elimistössä (mukaillen Freese & Voutilainen.2012, 136).

Kuvassa 1 on havainnollistettu kalsiumin kiertoa elimistössä. Päivän aikana ruoasta saatavasta kalsiumista elimistöön imeytyy noin 30 %, mutta takaisin suolistoon imeytyy noin kolmannes tästä määrästä. Todellisuudessa elimistö käyttää siis hyväksi noin 20 % ravinnon kalsiumista. Suolistoon takaisinimeytynyt kalsium poistuu ulosteen mukana. Virtsaan erittyy kalsiumia vuorokauden aikana noin 100 – 150 mg, mikä on noin 1 % vuorokauden aikana suodatetusta

kalsiumin kokonaismäärästä. Täten ruoasta saatu kalsiumin määrä ja elimistöstä poistuvan kalsiumin määrä pysyy samana. Kalsiumia kiertää noin 1 g luuston ja verenkierron välillä vuorokaudessa. Luusto on ensisijainen lähde veren kalsiumkonsentraatiosuhteen säilyttämiseksi. Luuston kalsiumista pieni osa, noin 5 g, on heti elimistön käytettävissä veren kalsiumtasapainon ylläpitämiseksi. Pehmytkudoksissa kalsiumia on noin 1 g. (Endres & Rude 1999, 1396–1398, 1434–1435.)

Suurin tekijä kalsiumaineenvaihdunnassa on parathormoni. Parathormoni vaikuttaa nopeasti vapaan kalsiumin pitoisuuden nousuun veressä kiihdyttämällä takaisinimeytymistä munuaisissa. Parathormoni kiihdyttää myös D-vitamiinin muuntumisprosessia kalsitrioliksi, joka edistää kalsiumin aktiivista imeytymistä suolistosta. Kalsitrioli kiihdyttää luunsyöjäsolujen, eli osteoklastien, toimintaa nopeuttaen luuston hajoamista, jolloin kalsiumia vapautuu verenkiertoon. Kalsiumaineenvaihduntaan vaikuttaa myös kalsitoniini, joka vaikuttaa veren kalsiumpitoisuutta alentavasti. Kalsitoniini estää osteoklastien toimintaa hidastaen luuston liukenemista, jolloin kalsiumin erityös luustosta verenkiertoon sekä solunulkoiseen nesteeseen hidastuu. (Endres & Rude 1999, 1410–1424.)

Seerumin proteiineihin (albumiini ja globuliini) sitoutunut kalsium on erittäin herkkä pH:n muutoksille. 0,1 yksikön muutos pH:ssa vaikuttaa veren vapaan kalsiumin konsentraatioon. Vapaan kalsiumin pitoisuus laskee veren pH:n noustessa, ja pH:n lasku puolestaan aiheuttaa vapaan kalsiumin pitoisuuden nousun veressä. (Endres & Rude 1999, 1396.)

Kalsiumin tasapainoon vaikuttavissa tekijöissä aiheutuvat muutokset voivat aiheuttaa elimistön kalsiumtasapainoon häiriön, joka johtaa kalsiumin puutostilaan (hypokalsemia) tai kalsiumin liikapitoisuuteen elimistössä (hyperkalsemia). Esimerkiksi plasmasoluihin kohdistuvassa syöpäsairaudessa seerumin korkeat globuliinipitoisuudet sitovat enemmän kalsiumia, jolloin veren kokonaiskalsiumpitoisuus kasvaa johtaen hyperkalsemiaan. (Endres & Rude 1999, 1396.)

2.4 Ionisoituneen kalsiumin määrittämiseen johtavia syitä

Yleisin syy ionisoituneen kalsiumin määrittämiseen on ollut hyperparatyreoosin selvittäminen. Hyperparatyreoosi on lisäkilpirauhasen liikatoimintaa. Tässä taudissa oirekuva on kuitenkin hyvin epämääräinen ja oireet usein lieviä, joten sattumalöydöksenä se on harvinainen. Epämääräiset fyysiset, psyykkiset tai kognitiiviset oireet ovatkin hyvä syy määrittää kalsiumtaso. Kalsiumia määritetään myös epäiltäessä syöpäsairauksia, koska kasvaimet tuottavat usein parathormonin kaltaisia välittäjäaineita. Näiden lisäksi myös metastaasien aiheuttama luuston liukeneminen nostaa seerumin kalsiumpitoisuutta. Malignien tuumoreiden ja primaarisen hyperparatyreoosin aiheuttamassa sekundaarisessa osteoporoosissa kalsium on myös koholla. Primaarisessa osteoporoosissa ei kuitenkaan huomata muutosta kalsiumionipitoisuudessa. Ionisoitunutta kalsiumia määritetään myös virtsakivistä kärsivillä potilailla. Hyperparatyreoosi on virtsakiven aiheuttajista ainoa, joka nostaa seerumin kalsiumionipitoisuutta ja on leikkamalla parannettavissa. (Saha 2001, 405–407.)

Munuaisen vajaatoiminnassa D-vitamiinin tuotanto heikkenee aiheuttaen hypokalsemian, koska D-vitamiinin puutteen vuoksi kalsiumin imeytyminen suolistosta vähenee. Tämä kiihdyttää parathormonin tuotantoa ja voi johtaa sekundaariseen hyperparatyreoosiin. Tämän vuoksi dialyysipotilaiden kalsiumarvoja on seurattava jatkuvasti. Vanhusten korkea verenpaine voi olla myös hyperparatyreoosin aiheuttamaa. (Saha 2001, 405–407.)

2.5 Kliininen merkitys

Ionisoitunut kalsium on mukana proteiinisynteesissä ja useissa eri entsyymaattisissa reaktioissa. Se on mukana muun muassa solujen eri reseptoritoiminnoissa ja adenosiinitrifosfaatin ja adenosiinimonofosfaatin reaktioiden kuljetustoiminnoissa. Kalsiumioni osallistuu myös veren hyytymistapahtumiin. (Penttilä 2004b, 159.)

Liian matala pitoisuus voi aiheuttaa ongelmia sydämen sekä lihas- ja hermokudoksen toiminnassa vaikuttamalla negatiivisesti esimerkiksi solujen erilaisiin viestintätapoihin. Matalia arvoja, eli niin sanottua hypokalsemiaa, voivat aiheut-

taa muun muassa munuaisten vajaatoiminta ja D-vitamiinin puutos. Hoitotoimenpiteistä hypokalsemiaa aiheuttaa esimerkiksi kilpirauhasten poistaminen. Liiallinen pitoisuus, eli hyperkalsemia, taas kerryttää kalsiumia elimistöön. Todettua ongelmaa tutkittaessa ei yksittäinen arvo kuitenkaan anna todellista kuvaa potilaan tilasta, vaan tilaa on seurattava useilla toistuvilla mittauksilla, joita varten ruokavalio vakioidaan ennen tutkimuksia ja niiden ajaksi. (Penttilä 2004a, 127.)

Kalsiumin imeytymistä ravinnosta, vapautumista luustosta ja takaisinimeytymistä munuaisissa ohjaa lisäkilpirauhasissa tuotettava parathormoni. Näin ollen lisäkilpirauhasten vajaatoiminnan seurauksena kalsiumin pitoisuutta elimistössä lisäävän parathormonin tuotanto vähenee, jolloin myös kalsiumia saadaan liian vähän. (Bjålie ym. 2011, 207–208.) Syynä parathormonin puutteen aiheuttamaan hypokalsemiaan voi olla myös kilpirauhasen poisto (Penttilä 2004a, 129).

Hypokalsemiaa aiheuttaa myös D-vitamiinin puute. Puute voi johtua ruokavalion riittämättömästä D-vitamiinista tai munuaisten vajaatoiminnasta, jonka seurauksena aktiivisen D-vitamiinin tuotanto voi häiriintyä. (Duodecim 2010.)

Akuutti hypokalsemia on yleensä oireeton, kun ionisoituneen kalsiumin arvot ovat yli 0,9 mmol/l. Vaikea hypokalsemia voi aiheuttaa muun muassa tetaniaa eli lihaskouristelua. Oireena voivat olla myös kurkunpään lyhyet, mutta voimakkaat supistelut, sekä kammioarytmia. Hypokalsemia voi aiheuttaa myös parestesioita, jolloin potilas tuntee poikkeuksellista kihelmöintiä, pistelyä ja puutumista erityisesti sormien, varpaiden ja suun seudulla. Kroonisena hypokalsemia aiheuttaa osteomalasiaa eli luuston pehmenemistä. (Duodecim 2010; Koivu 2006, 388–389.)

Hyperkalsemian syynä ovat yleisimmin lisäkilpirauhasten kasvaimet, jotka lisäävät kalsiumin imeytymistä ja vapautumista lisäävän parathormonin tuotantoa. (Bjålie ym. 2011, 207). Syynä hyperkalsemiaan voivat olla kuitenkin, parathormonin tuotannosta riippumattomasti, hormoninkaltaisia välittäjäaineita erittävät syöpätaudit yleisestikin. Vähäisen D-vitamiinin saannin vaikuttaessa laskevasti elimistön kalsiumiin, on sen yliannostuksella vastaavasti kalsiumpitoisuutta kohoottava vaikutus. (Kauppinen-Mäkelin 2010.)

Hyperkalsemiassa oireiden voimakkuus vaihtelee paljon tapauskohtaisesti. Se on kuitenkin yleensä oireeton, jos paastoplasman kalsiumpitoisuus on alle 2.8 mmol/l. Suoranaisesti lisämunaisten liikatoiminnasta johtuva hyperkalsemia todetaan monesti sattumalta. Tällöin oireena ovat olleet pitkittyneet kivut, ummetus ja masennuksen oireet. Myös luukatoa ja virtsatiekivien taustaa tutkittaessa löydöksenä on usein hyperparatyreoosi. Nopea voinnin heikentyminen on usein merkki pahanlaatuisesta kasvaimesta. (Endres ym. 2001, 799; Kauppinen-Mäkelin 2010.)

Pääasiallisesti hyperkalsemiasta kärsivä on ruokahaluton ja väsynyt. Ruoansulatuskanavissa hyperkalsemia aiheuttaa monenlaisia oireita, kuten ummetusta, mahahaavoja, vatsakipuja ja pahoinvointia yleisesti. Koska hyperkalsemiassa kalsiumin luovutus luustosta on kiihtynyt, sillä on vaikutusta myös luuston ja nivelten lujuuteen. Murtumat ja kivut luustossa ja nivelissä ovat myös tilan oireita. Kalsiumilla on tärkeä rooli sydänlihassolujen hermotuksessa ja prosesseissa, joten liian korkea pitoisuus aiheuttaa haittaa myös sydämen ja verenkiertoelimistön toimintaan. (Kauppinen-Mäkelin 2010.)

3 Laborioriotutkimusprosessi kalsiumionitutkimuksessa

3.1 Preanalytiikka ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä

Laborioriotutkimuksen preanalyttisellä vaiheella käsitetään kaikkea ennen varsinaista määrittystä tapahtuvaa toimintaa. Siihen kuuluvat tutkimuksen pyytäminen, potilaan ohjaaminen, näytteenoton oikea tekninen suorittaminen, näytteen käsittely, näytteen kuljetus ja näytteen säilytys. Jokaisella näistä vaiheista on vaikutusta tutkimustulosten oikeellisuuteen ja tätä myöten oikean hoidon takaamiseen. Virheellinen toiminta preanalyttisessä vaiheessa voi pahimmillaan tehdä koko tutkimuksesta turhan tai jopa johtaa väärin jatkotoimenpiteisiin. (Lehto ym. 2008, 49; Laitinen 2004a, 32.)

Huolellisella potilaan ohjauksella on suuri merkitys preanalyttisen vaiheen onnistumisessa. Monet tutkimukset vaativat esimerkiksi lääkkeiden poisjättämistä,

paastoa, juomisen ja tupakoinnin rajoittamista, sekä lepoa tietyksi ajaksi ennen näytteenottoa. Joissakin tutkimuksissa myös näytteenoton aika on oltava haluttuun tutkimukseen oikea. (Lehto ym. 2008, 49; Markkanen 2000, 172–173.) Ionisoituneen kalsiumin tutkimusta pyydetään sekä paastonäytteenä että ilman paastoa (ISLAB 2012). Huono potilaan ohjaus voi tehdä näytteenotosta ja koko loppuprosessista turhan.

Preanalyttisessä vaiheessa itse näytteenottotilanne on tärkeimpiä. Tutkimuksesta riippuen tuloksiin saattavat vaikuttaa muun muassa vuorokausirytmien mukainen pitoisuuksien vaihtelu, paasto, oikeita lisäaineita sisältävän näyteputken valinta ja koko näytteenottovaiheen aikainen materiaalin käsittely, kuten huolellinen ja riittävä sekoitus. Sekoittaessa on kuitenkin varottava hemolyyysiä, jolla on erityisesti ionisoituneen kalsiumin tapauksessa selkeästi tulosta alentava vaikutus. (Laitinen 2004a, 32–33; Metsävainio, Romppanen & Väisänen 2006, 122; Markkanen 2000, 172–173.) Myös staasin käyttö voi aiheuttaa näytteen määrittystä vaikeuttavaa hemolyyysiä (ISLAB 2012).

Kun näytteitä kuljetetaan ja säilytetään on tärkeää muistaa, että ihmisperäisen materiaalin metabolia jatkuu vielä kehon ulkopuolellakin. Koska tutkimuksen tarkoitus on saada kuva elimistön tilasta näytteenoton hetkellä, näyte tulisi kuitenkin saada määritettyä mahdollisimman tarkasti samanlaisessa koostumuksessa kuin se on sitä otettaessa. Tämän vuoksi näytteessä tapahtuvia muutoksia tulisi hidastaa tai estää ennen varsinaisen määrittelyn suorittamista. Tutkitavasta komponentista riippuen pitoisuuksiin saattavat vaikuttaa esimerkiksi UV-valo ja lämpötilat. Säilymiseen voidaan vaikuttaa valitsemalla oikeanlaiset lisäaineet ja pyrkimällä pitämään olosuhteet halutulle tutkimukselle optimaalisena. (Tapola 2004, 30–31; Lehto ym. 2008, 49.)

Elimistön ulkopuolella tapahtuva metabolia nostaa seerumin ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta. Soluhengityksessä syntyvä hiilidioksidi laskee näytteen pH:ta, jolloin proteiineihin sitoutuminen vähenee nostaen samalla vapaan kalsiumin pitoisuutta näytteessä. Tämä tapahtuu anaerobisessa metaboliassa. Anaerobisella tarkoitetaan suljettua hapetonta tilaa. pH:ta laskee myös erytrosyyttien ja valkosolujen tuottama laktaatti. pH:n kohoaminen lisää kalsiumionien sitoutumista, jolloin vapaan ionisoituneen kalsiumin määrä pienenee. Tätä ta-

pahtumaa voidaan monissa tilanteissa hidastaa jäädyttämällä näytettä ja suoritettamalla määrittäminen mahdollisimman nopeasti näytteenotosta. (Endres & Rude 2001, 800–801.) Säilymisen kannalta paras lämpötila on noin +4 °C, jossa kalsiumioninäyte säilyy kuitenkin enintään yhden vuorokauden (ISLAB 2012). Kalsiumia ei suositella käsiteltäväksi aerobisissa, eli happea sisältävissä olosuhteissa, vaan näytteet tulisi mielellään ottaa suljetuilla putkilla tai ruiskuilla, ja niiden käsittely tulisi tapahtua myös mahdollisimman anaerobisesti. Avonaisissa näyteputkissa näytteessä oleva hiilidioksidi pääsee karkaamaan, jolloin näytteen pH nousee lisäten kalsiumionien sitoutumista proteiineihin. Kun tällöin mitataan vapaan kalsiumin pitoisuutta, tulokseksi saadaan todellista tilannetta pienempi arvo. (Endres & Rude 2001, 800–801; Väisänen 2008, 69; Metsävainio ym. 2006, 122.)

3.2 Ionisoituneen kalsiumin analyysimenetelmä

Nykyisin ionisoituneen kalsiumin mittaukseen käytetään yleisimmin ionispesifistä elektrodia, eli niin sanottua ISE-menetelmää. Se mittaa näytteen ioniaktiivisuutta, josta konsentraatio lasketaan. Näyte pumpataan spesifisen puoliläpäisevän kalvon sisältävälle elektrodille, jossa mittaus tapahtuu. Näytteestä mitataan myös pH, jotta tulokset voidaan suhteuttaa pH-pitoisuuteen *in vivo*. Itse ioniaktiivisuutta mittaavan elektrodin lisäksi mittausyksikössä on referenssielektrodi, jonka jännite-eroa mittaalektrodiin vertaamalla tulokset lasketaan. (Laitinen 2004b, 77–79; Endres & Rude 2001, 800–801.)

Kalsiumionia mittaavassa elektrodissa on kalsiumionille selektiivinen kalvo, jonka takana on vertailuliuosta. Vertailuliuos koostuu yleensä fysikaalisen pitoisuuden omaavasta kaliumkloridi- tai natriumkloridiliuoksesta, joka sisältää usein myös hopeakloridia. Moderneissa ioninvaihtoelektrodeissa kalvot voivat olla myös nestemäisiä. Näissä spesifinen elektrodi on liuotettu reagoimattomaan liuokseen. Näissä mittayksiköissä on myös ulkoinen referenssielektrodi, joka on yhteydessä näytteeseen neste- tai kaliumkloridisillalla. Näissä yksiköissä jännite-ero yksikön eri puolilla mitataan ja pitoisuus lasketaan logaritmisesti. (Laitinen 2004b, 77–79; Endres & Rude 2001, 800–801.)

Na^+ - ja Cl^- -ionit määrittävät pitkälti näytteen ionivahvuutta. Vaikka niitä tarkkailaankin, niiden pitoisuuden vaihtelu ei aiheuta kliinisesti merkittävää muutosta vapaan ionisoituneen kalsiumin arvoihin. Analysaattoreissa käytettävät, puskurista ja ruokasuolasta valmistetut kalibraattorit on suunniteltu toimimaan käyteille kokoveri-, plasma- ja seeruminäytteille tyypillisille ionivahvuuksille, joten vaikutus tuloksiin on saatu minimoitua. Kuitenkin Na^+ - ja Cl^- -pitoisuuksiltaan selvästi edellä mainituista eroavia näytemateriaaleja mitattaessa vaikutus voi olla selvemmin huomattavissa. Kalsiumelektrodit toimivat pääasiallisesti erittäin spesifisesti pelkän ionisoituneen kalsiumin mittaajina. Pieni vaikutus on kuitenkin huomattavissa, jos natriumpitoisuus on voimakkaasti poikkeava tai esimerkiksi magnesiumin tai litiumin kationit ovat huomattavan korkealla. Plasman, seerumin ja kokoveren mittaukset eroavat myös jonkin verran toisistaan. Tämä ero on suurin tutkittaessa kokoverta, jonka sisältämät punasolut muuttavat jännitettä hieman verrattuna plasmaan ja seerumiin. Mitä enemmän näytteessä on punasoluja, sitä suurempia pitoisuuksia mitataan. Tämä vaikutus on kuitenkin monissa analysaattoreissa huomioitu mahdollisuudella säätää laite kullekin näytemateriaalille sopivaksi. (Endres & Rude 2001, 801.)

Myös proteiineilla on haitallinen vaikutus mittaustuloksiin. Tämä on kuitenkin pyritty poistamaan tai minimoimaan käyttämällä elektrodeissa sellaisia kalvoja, jotka suodattavat proteiinin. Kalvolle jäävät proteiinit kannattaa kuitenkin poistaa, ja laitteita puhdistaa ja huoltaa säännöllisesti, jolloin vaikutus saadaan pidettyä mahdollisimman pienenä. Puhdistaessa kannattaa kuitenkin huomioida se, että tietyt kemikaalit, kuten etanoli ja monet detergentit, vaikuttavat epäedullisesti elektrodin toimintaan. Myös kalsiumionin kanssa komplekseja muodostavia aineita tulisi välttää, sillä nämä vähentävät mitattavan vapaan ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta. (Endres & Rude 2001, 801.)

3.3 Ionisoituneen kalsiumin postanalytiikka

Postanalyttinen toiminta ionisoitunutta kalsiumia tutkittaessa on periaatteiltaan sama kuin muissakin kliinisen laboratorion tutkimuksissa. Tässä koko prosessin viimeisessä vaiheessa pohditaan tulosten luotettavuutta. Tavallisesti potilasnäytteitä käsiteltäessä tähän vaiheeseen liitetään myös tulosten tiedottaminen ja hoidon jatkosuunnittelu. (Matikainen, Miettinen & Wasström 2010, 12.) Ana-

lyysin onnistumista tarkastellaan muun muassa tarkastelemalla näyttemateriaalin sopivuutta. Näyttemateriaalin poikkeavuuden lisäksi tarkastellaan yleisesti koko prosessissa tapahtuneita mahdollisia virheitä ja niiden vaikutusta. Koska opinnäytetyön tehtävänä on ainoastaan tutkia näytteenottotekniikoiden välisiä eroja määritysten tuloksissa, postanalyttisessä vaiheessa voidaan keskittyä pelkästään tulosten luotettavuuteen.

Itä-Suomen laboratoriokeskuksen liikelaitoskuntayhtymän, ISLABin, ohjeen mukaan kalsiumionitutkimuksesta vastataan vapaan ionisoituneen kalsiumin pitoisuus aktuaalina näytteen todellisessa pH:ssa ja normalisoituna pH 7,4:ään (ISLAB 2012). Kansainvälisen kliinisen kemian järjestön, IFCC:n, suosituksen mukaan suurin sallittu poikkeama vapaan ionisoituneen kalsiumin mitatuissa ja laskennallisesti normalisoiduissa tuloksissa saisi olla korkeintaan 2 % (Burnett, Christiansen, Covington, Fogh-Andersen, Külpmann, Lewenstam, Maas, Müller-Plathe, Sachs, Andersen, VanKessel & Zijlstra 2000, 1307).

3.4 Laadunvarmistus kliinisessä laboratoriotoiminnassa

Laadukkaalla laboratoriotoiminnalla tarkoitetaan muun muassa käytettävien laitteiden ja menetelmien luotettavuutta, henkilökunnan osaamista ja osaamisen kehittämistä, asiakkaiden tarpeiden tunnistamista ja niiden täyttämistä. Laadun ylläpitäminen vaatii toiminnan jatkuvaa tarkkailua ja toimintatapojen aktiivista kehittämistä. (Sinervo 2011.)

Ennen uusien laitteiden ja menetelmien käyttöönottoa niiden toistettavuudesta ja luotettavuudesta on oltava todisteita. Siksi ne tulee validoida tai verifoida ennen varsinaista käyttöä. (Liimatainen 2010, 57.) Validoinnilla tarkoitetaan uuden menetelmän koekäyttöä, jota verrataan laatuvaatimukseen ottaen huomioon sen käytön kohteet, kuten sairauden diagnosointi. Verifiointilla puolestaan todistetaan menetelmän tulostasojen oikeellisuus. (Linko 2004, 60–62.) Validoinnin suorituksen laajuuteen vaikuttavat kyseessä olevan menetelmän lähtökohdat. Itse kehitetty menetelmä vaatii laajemman tarkkailun kuin esimerkiksi kansainväliseen standardiin perustuva menetelmä. (Terveiden ja hyvinvoinnin laitos 2005.)

Laadunvarmistuksessa käytetään sekä sisäistä laadunvalvontaa, että ulkoista laadunarviointia. Sisäisellä laadunvalvonnalla tarkoitetaan laboratorioiden itsensä suorittamaa tarkkailua omilla tai kaupallisilla kontrollinäytteillä. Ulkoisesta laadunarvioinnista vastaa Labquality Oy, joka suorittaa laaduntarkkailukierroksia, joiden tarkoituksena on vertailla kierrokseen osallistuneiden eri laboratorioiden menetelmien ja laitteiden tulosten yhteneväisyyttä. (Penttilä 2004c, 35–38.)

Sisäisessä laadunvalvonnassa laboratorio tekee jatkuvasti omatoimisesti määrittäyksiä vapaan kalsiumin kontrollinäytteillä. Tarkoituksena kontrolloinnissa on se, että tulokset saadaan pysymään vertailulaboratorioiden ja laaduntarkkailukierroksilla kerättyjen tulosten tasolla. Sisäisessä laadunohjauksessa tarkkaillaan tulosten toistettavuutta. (Penttilä 2004c, 36–37.) Kontrollinäytteitä määritetään toistuvasti, jolloin mahdolliset muutokset on helppo havaita. Tällä estetään virheellisten tulosten pääsy hoitavan lääkärin käsiin. (Linko 2004, 60–62.) ISLABin sisäinen laadunvalvonta sisältää laitevalmistajan toimittamat kolme eri pitoisuuden omaavaa laadunvalvontanäytettä ja potilasnäytevertailut, jotka tehdään työpistehjeiden mukaisesti kaksi kertaa vuorokauden aikana samoilla näytteillä kaikille analysoitsijoille. Kontrolleille ja potilasvertailunäytteille on sovittu yhteiset rajat ISLABin laboratorioiden välillä. (Mättö 2010, 3; Savolainen ym. 2011, 4.)

Labquality Oy:n järjestämissä laadunarvioinneissa tutkitaan arvoiltaan tuntemattomia näytteitä. Näissä yksittäisten laboratorioiden saamat tulokset kerätään ja niitä vertaillaan yleisesti muista laboratorioista saatuihin tuloksiin. Tällä vertailulla saadaan kuva laboratorion omien menetelmien ja laitteiden tasosta. (Penttilä 2004c, 35–36.) ISLABin toimialueen kaikki laboratoriot osallistuvat Labquality Oy:n järjestämille happoemästase-, elektrolyytti- ja hemoksimetrikierroksille, jotka tehdään neljä kertaa vuodessa. (Labquality 2012; Savolainen & Simonen 2011, 4.)

4 Opinnäytetyön tarkoitus

Opinnäytetyön tarkoituksena oli selvittää avonäytteenottotekniikan käyttömahdollisuutta seerumin ionisoituneen kalsiumin määrittämisessä. Työssä tutkittiin vakuumi- ja avonäytteenottotekniikan välisiä eroja seerumin ionisoituneen kalsiumin määrittämisen tuloksissa. Lisäksi työssä vertailtiin viilennettyyn ja huoneenlämpöiseen näyteputkeen otettujen näytteiden kalsiumionipitoisuuksien ja pH-arvojen eroja.

Tutkimuskysymykset:

1. Poikkeavatko avo- (B ja C) ja vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otettujen kalsiumioninäytteiden pitoisuudet toisistaan?
2. Vaikuttaako näytteenotto-putken viilentäminen kalsiumionimäärittämisen tuloksiin?

5 Tutkimuksen toteutus

5.1 Kvantitatiivinen tutkimus

Opinnäytetyö on vertaileva kvantitatiivinen eli määrällinen tutkimus, jossa tutkittiin eri näytteenottomenetelmien vaikutusta ionisoituneen kalsiumin mittaustuloksiin. Kvantitatiivisia tutkimuksia kuvataan usein numeerisesti, ja niiden käytettävä aineisto on yleensä suuri. Tutkimustulokset voivat merkitä muun muassa määrää, ajankohtaa tai sijaintia. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 21.) Tässä työssä tutkitaan poikkeavasta näytteenottotavasta johtuvaa määrällistä mitattavan ionisoituneen kalsiumpitoisuuden muutosta. Vertailevalla tutkimuksella tarkoitetaan kahden tai useamman samankaltaisen tekijän aiheuttaman ilmiön erojen tutkimista. Tutkimuksen tarkoituksena on tuottaa selkeää tietoa näistä eroista. (Vilkkä 2007, 21.) Tässä opinnäytetyössä näinä tekijöinä voidaan pitää eri näytteenottotekniikoita.

5.2 Kalsiumioninäytteiden otto, säilytys ja kuljettaminen

Opinnäytetyön suoritukseen tarvittavat kalsiumnäytteet otettiin Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun bioanalytiikan koulutusohjelman opiskelijoilta. Näytteenotto suoritettiin Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Liiketalouden ja tekniikan keskuksessa. Tutkimuksen analyysivaiheeseen tarvittavan verikaasuanalysaattorin käyttöön saatiin lupa toimeksiantajana toimineelta ISLABin klinisen kemian Joensuun aluelaboratoriolta (liite 2). Näytteet otettiin viideltätoista eri henkilöltä, joista yhden (näytesarja 6) näytteet hylättiin epäonnistuneen näytteenoton vuoksi. Näytteenantajille ei asetettu terveydentilaa tai muitakaan henkilökohtaisia ominaisuuksia koskevia rajoituksia, koska ne eivät olleet merkityksellisiä tutkimuksen tulosten kannalta. Työssä vertailtiin ainoastaan eri näytteenottomenetelmistä johtuvia mitattavia vapaan kalsiumin pitoisuuseroja. Näytteenotto suoritettiin tarkasti ISLABin ohjekirjan mukaan, poislukien avonäytteenottotilanne, jota ei siis ohjekirjassa suositella. Kuitenkin myös avonäytteenottotekniikalla otettujen näytteiden muu käsittely suoritettiin vakuuminäytteenottotekniikan käsittelyä vastaavasti. Avonäytteenottotekniikalla otettiin myös kultakin näytteenantajalta näyte jäähdytettynä putkeen, jolloin saatiin tutkittua viilennyksen mahdollista metaboliaa hidastavaa vaikutusta.

Jokaiselta näytteenantajalta otettiin kolmen näytteen näytesarja. Näytesarja koostui yhdestä vakuuminäytteenottotekniikalla otetusta näytteestä (Tunnus A) ja kahdesta avonäytteenottotekniikalla otetusta näytteestä, joista toinen otettiin huoneenlämpöiseen (Tunnus B) ja toinen viilennettyyn putkeen (Tunnus C). Sekä avo- että vakuumitekniikoilla otetut näytteet otettiin seerumigeeliputkiin hemolyysin välttämiseksi ilman staasia. Kylmäputkia viilennettiin yön yli 4-5 °C:ssa jääkaapissa. Jäähdytetyt putket otettiin jääkaapista yksi kerrallaan näytteenottotilanteeseen, ja niitä pidettiin kylmägeeliin käärittynä täyttöö asti. Kaikki putket täytettiin mahdollisimman tarkasti putkivalmistajan ilmoittamaan tilavuuteen. Näytteenoton ja avoputkien korkittamisen jälkeen näyteputkia (A, B ja C) seisotettiin ennen sentrifugointia vähintään 15 minuuttia, mutta kuitenkin korkeintaan kaksi tuntia, jotta solumassa ei häiritsisi seerumin erottumista. Esitutkimuksessa huomattiin 15 minuutin seisottamisen jälkeen, että se on riittävä aika näytteen hyytymiselle. Sentrifugoinnin jälkeen putket (A, B ja C) siirrettiin takaisin viileään, koska säilymisen kannalta paras lämpötila on noin +4 °C, jos-

sa kalsiumioninäyte säilyy enintään yhden vuorokauden (ISLAB 2012). Kun kaikki näytteet oli sentrifugoitu, ne laitettiin kylmävaraajilla ja lämpömittarilla varustettuun kylmälaukkuun kuljetuksen ajaksi. Kylmälaukun sisällä lämpötila pysyi kylmävaraajien avulla noin 4-5 °C:ssa.

Työssä ei tuotettu vastauksia näytteenantajille, joten heidän henkilötietojaan ei myöskään tarvittu. Yksityisyydensuojan vuoksi putket merkittiin numeroin ja kirjaimin. Numero oli juokseva ja merkitsi näytteenantajaa. Numeron perään merkittiin kirjain, joka kuvasi näytteenoton tekniikkaa. Tunnus A kertoi vakuumitekniikan käytöstä, tunnus B avotekniikasta ja tunnus C avotekniikalla jäähdytettyyn putkeen otetusta näytteestä. Taulukossa 1 on havainnollistettu putkien merkitsemistä.

Taulukko 1. Esimerkki näyteputkien merkitsemisestä.

Tunnus	Merkitys	Tunnus	Merkitys	Tunnus	Merkitys
1A	Näytteenantajan 1 vakuuminäyte	1B	Näytteenantajan 1 avonäyte	1C	Näytteenantajan 1 avonäyte jäähdytettyyn putkeen
2A	Näytteenantajan 2 vakuuminäyte	2B	Näytteenantajan 2 avonäyte	2C	Näytteenantajan 2 avonäyte jäähdytettyyn putkeen
...
nA	Näytteenantajan n vakuuminäyte	nB	Näytteenantajan n avonäyte	nC	Näytteenantajan n avonäyte jäähdytettyyn putkeen

5.3 Kalsiumioninäytteiden analysointi

Näytteiden pitoisuuksien määrittäminen suoritettiin Siemensin valmistamalla Rapidlab 1265-verikaasuanalysointilaitteella. Laitteen käyttöoikeudesta sovittiin toi-

meksiantosopimuksessa (liite 1). Laitteen käytössä toimittiin ISLABin klinisen kemian laboratorion sairaalakemistin ohjauksessa ISLABin menetelmäohjeiden mukaisesti. Tällä varmistettiin, että analyysi vastaisi mahdollisimman tarkasti oikean potilasnäytteen käsittelyä. Näytesarjat 1-11 määritettiin näytteenottopäivänä. Sairaalakemistin pyynnöstä näytesarjat 12-15 (Putket A, B ja C) määritettiin vuorokauden kuluttua näytteenotosta, jotta nähtäisiin pidemmän säilytyksen vaikutus näytteiden kalsiumioni- ja pH-pitoisuuksiin.

Määrittäminen aloitettiin valitsemalla analysaattorista halutut mitattavat parametrit. Ionisoitunutta kalsiumia määritettäessä valittiin analysaattorilta valmis ohjelma, joka sisältää pH:n sekä aktuaalin ja laskennallisen ionisoituneen kalsiumin pitoisuuden. Näyte imettiin seerumigeeliputkesta 1ml:n ruiskuun, josta analysaattori aspiroi näytteen mitattavaksi. Näytettä ruiskuun vedettäessä varottiin ilmakuplien, hyytymien ja geelin joutumista ruiskuun. Nämä olisivat voineet tukkia analysaattorin letkustoja ja vahingoittaa analysaattoria. Kun analysaattori oli aspiroinut tarvittavan näytemäärän, siihen asetettiin näytteen lämpötila. Todellisella lämpötilalla ei kuitenkaan ole ionisoituneen kalsiumin kannalta merkitystä, joten koneelle syötettiin oletuslämpötilaksi 37 °C. Laite ilmoitti tuloksen noin minuutin kuluessa näytöllä ja erillisellä tulosteella.

Määrittäysten tulokset kirjattiin talteen välittömästi niiden valmistuttua. Tulokset kirjattiin taulukoituina laboratoriapäiväkirjaan, johon kirjattiin myös kaikki työkentelyssä sattuneet virheet ja poikkeamat. Myös laitteen antamat näytekohtaiset ja kontrolleja koskevat tulosteet kerättiin talteen liitteiksi. Laitteen ilmoittamista tuloksista otettiin talteen näytteiden aktuaali kalsiumionipitoisuus, pH ja pH 7,4:ään laskennallisesti normalisoitu kalsiumionipitoisuus. Nämä ovat samat arvot, jotka lähetetään S-Ca-Ion pyynnön vastaukseksi.

5.4 Toimintaympäristö

Näytteiden ottaminen tapahtui Pohjois-Karjalan ammattikorkeakoulun Liiketalouden ja tekniikan keskuksen tiloissa. Näytemateriaali saatiin bioanalytiikan koulutusohjelman opiskelijoilta. Näytteenottovälineet ja -tarvikkeet järjestysivät PKAMK:n puolesta.

Näytteet analysoitiin yhteistyössä toimeksiantajana toimineen ISLABin Joensuu aluelaboratorion klinisen kemian osaston kanssa. Toimeksiantajaan pidettiin yhteyttä puhelimitse ja sähköpostilla. Määritykset suoritettiin heidän analysaattorillaan. ISLABilla on käytössään Rapidlab 1265-verikaasuanalysaattoreita, joista käytettiin yhtä. Perehdytys laitteiden käyttöön ja tuki ongelmatilanteissa saatiin sairaalakemistiltä. ISLABin laboratoriot ovat mittatekniiikan keskuksen eli FINAS:n akkreditoimia. ISLABin laboratoriot on akkreditoitu SFS-EN ISO/IEC 17025 standardin mukaisesti, jolloin niillä on tarvittava tekninen pätevyys suorittaa määriteltyjä testejä, kalibrointeja ja mittauksia. FINAS suorittaa määräaikaista arviointikäyntejä ISLABin aluelaboratorioihin. (Savolainen & Simonen 2011, 2–5.)

6 Tutkimustulosten analyysimenetelmät

Hajontaluvuilla on tarkoitus mitata havaintoarvojen sijoittumista keskiluvun ympärille, eli kuinka laajalle tai suppealle välille havaintoarvot sijoittuvat. Keskihajonta kertoo, miten laajalle alalle keskiarvosta havaintoarvot ovat sijoittuneet, ja se on yleisin käytetty hajontaluku keskiarvon kanssa. Keskihajonta kuvaa parhaiten yksittäisen havaintoarvon etäisyyttä keskiarvoon nähden. (Holopainen & Pulkkinen 2008, 88–90; Vilkkä 2007, 124.) Hajontalukua käytettiin tässä opinäytetyössä hyväksi vaihtoehtoisten näytteenottotekniikoiden ja suositellun vaakuumitekniikan pitoisuuserojen keskiarvoistamisessa.

Tuloksien taulukointia käytetään silloin, kun halutaan esittää paljon numerotietoa yksityiskohtaisesti, esimerkiksi kahden muuttujan välistä erotusta. Taulukointia tukee kuviointi, jonka avulla numerotiedon vertailu on helpompaa ja tietoa itse tuloksesta saadaan nopeammin. (Vilkkä 2007, 135–136.)

Tuloksia tulkittiin myös vertailemalla näytesarjojen eri näytteiden tulosten toistettavuutta ISLABin potilasvertailu- ja kontrollinäytteiden hyväksytyihin toistettavuusrajoihin nähden. Toistettavuusrajoilla tarkoitetaan suurinta sallittua poikkeamaa saman näytteen mittaustulosten erotuksissa, kun sen määritystä toiste-

taan useita kertoja. Näitä rajoja käytettiin vertailtaessa sekä aktuaaleja ja normalisoituja kalsiumionipitoisuuksia että pH-arvoja. Vertailu tehtiin tarkastelemalla saman näytesarjan (A, B ja C) pitoisuuksien erotuksia, koska ne kuvaavat parhaiten näytesarjojen eri näytteenottotekniikoista johtuvia poikkeamia.

7 Tulokset

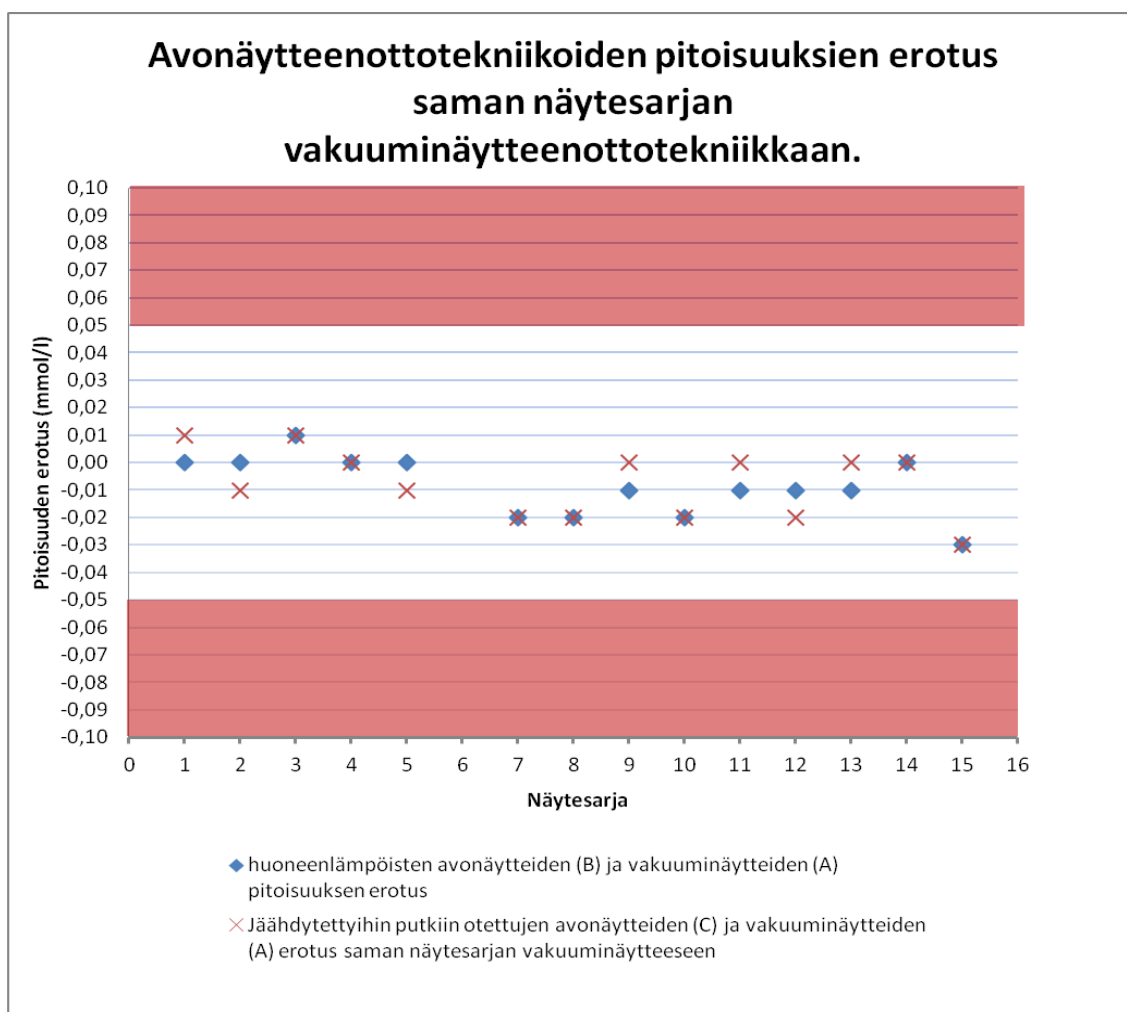
Avonäytteenottotekniikoiden (B ja C) käyttökelpoisuutta tutkittiin tarkastelemalla niiden määrittämisestä saatujen tulosten poikkeamaa vakuuminäytteenottotekniikkaan (A) verrattuna. ISLABin kliinisen kemian laboratoriossa kalsiumionitutkimuspyyntöön vastataan normalisoitu, eli laskennallinen pitoisuus. Tässä opinäytetyössä normalisoitu pitoisuus osoittaa avonäytteenottotekniikan pH-pitoisuuksiin aiheuttaman muutoksen vaikutusta. Tämän vuoksi normalisoitu pitoisuus oli yhtenä vertailun kohteena tässä opinäytetyössä. Normalisoitu pitoisuus lasketaan verrannolla näytteen aktuaalien, eli mitattujen pH:n ja pitoisuuden avulla.

Alla on esitetty normalisoidun pitoisuuden laskukaava:

$$C_{normalisoi tu} = 7.4 * \frac{C_{aktuaali}}{pH_{aktuaali}}$$

, jossa c tarkoittaa ionisoituneen kalsiumin pitoisuutta.

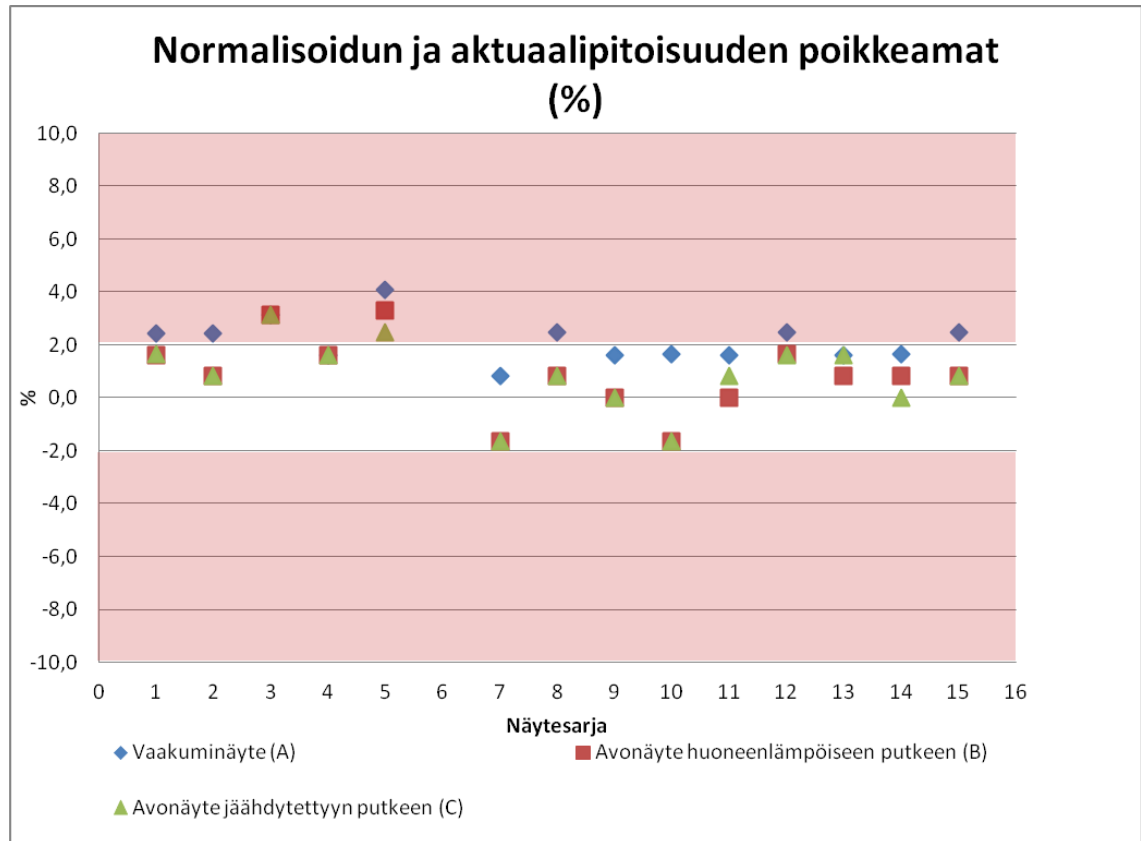
Kuviossa 1 on esitetty avonäytteenottotekniikoilla (B ja C) otettujen näytteiden pitoisuuksien erotukset vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otettuun näytteeseen kaikista näytesarjoista normalisoidun pitoisuuden osalta. Punainen väri kuvaa ISLABin menetelmäohjeissa määritettyä potilasvertailunäytteiden ja kontrolloinnäytteiden toistettavuusrajaa ($\pm 0,05$ mmol/l). (ISLAB 2011). Näytesarja 6 puuttuu kuviossa 1 hylkäämisen vuoksi.



Kuvio 1. Avonäytteenottotekniikoiden (B ja C) pitoisuuksien erotus saman näytesarjan vakuuminäytteeseen (A).

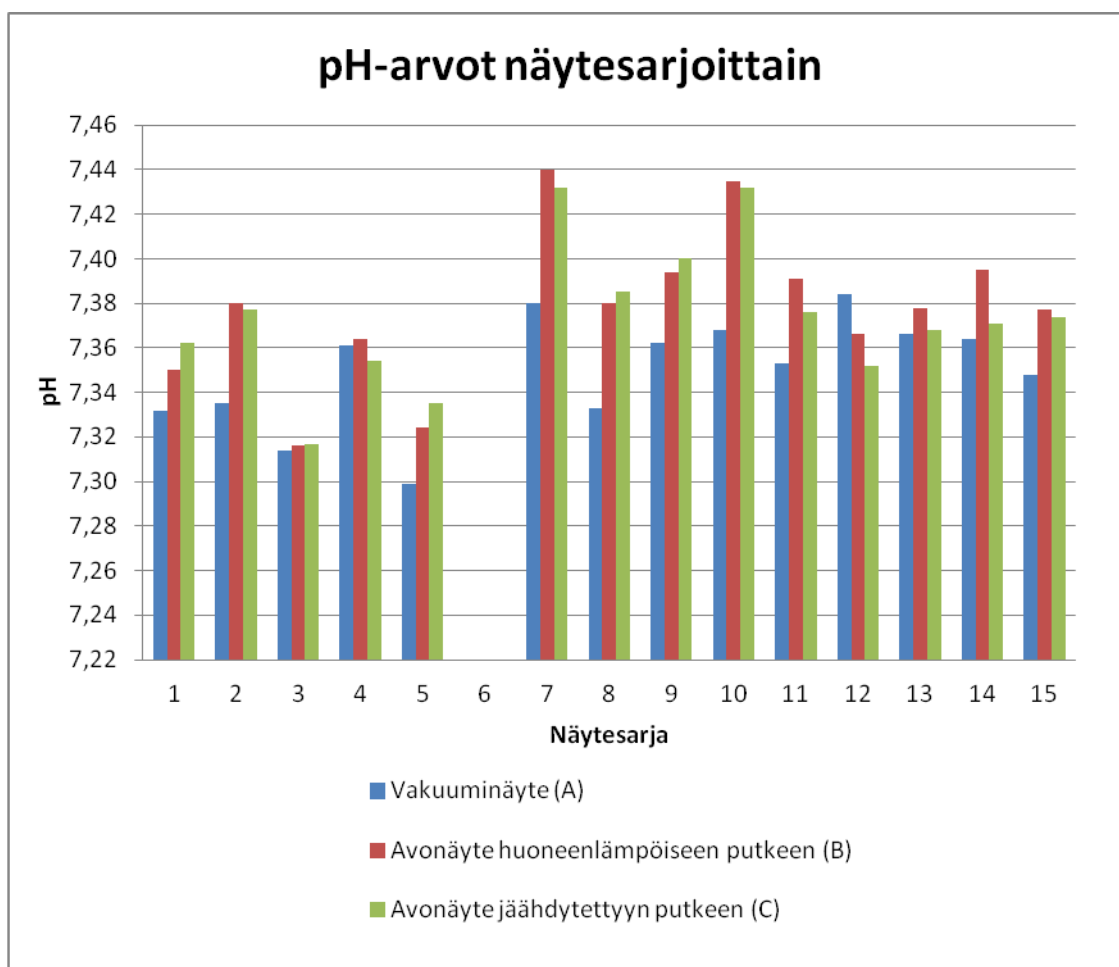
IFCC:n suosituksessa näytteen aktuaali ja normalisoitu pitoisuus saa poiketa toisistaan enintään 2 %. Koska näiden parametrien muutoksen suuruus on suoraan verrannollinen aktuaalin pH:n erotukseen pH 7,4:stä, tätä suositusta voitiin käyttää hyväksi tutkittaessa käytettyjen näytteenottotekniikoiden välisiä eroja pH-pitoisuudessa. pH:n muuttumisella on erittäin suuri vaikutus ionisoituneen kalsiumin mitattavaan pitoisuuteen. (Endres & Rude 1999, 1396.)

Kuviossa 2 vertaillaan kaikkia kolmea käytettyä näytteenottotekniikkaa aktuaalien ja normalisoitujen pitoisuuksien erotusten osalta prosentuaalisesti. Prosenttiyksiköt ilmoittavat, kuinka monta prosenttia erotuksen määrä on näytteen aktuaalista kalsiumionipitoisuudesta. Kuviossa 2 on merkitty punaisella värillä IFCC:n suosituksen ylittävät alueet. Näytesarja 6 puuttuu kuviosta 2 hylkäämisen vuoksi.



Kuvio 2. Aktuaalin ja normalisoidun kalsiumionipitoisuuden prosentuaalinen vertailu näytesarjoittain.

Kuviossa 3 vertaillaan ainostaan näytesarjojen pH-arvoja rinnakkain. Koska kirjallisuudessa oletetaan pH:n nousevan voimakkaasti avonäytteenotossa, tällä kuviolla halutaan havainnollistaa tuota muutosta. Näytesarja 6 puuttuu kuviosta 3 hylkäämisen vuoksi.



Kuvio 3. Näytteenottotekniikan vaikutus pH-arvoon näytesarjoittain.

8 Pohdinta

8.1 Tulosten tulkinta

Kuviossa 1 tarkastellaan saman näytteenantajan avonäytteiden (B ja C) pitoisuuksien erotusta vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otettuun näytteeseen. Kuvioon on merkitty ainoastaan pH 7,4:ään normalisoidut ionisoituneen kalsiumin pitoisuudet, jotka ovat kliinisesti merkityksellisimpiä. Kuvion pystyakselin nollakohtaan on sijoitettu vakuuminäytteistä (A) saadut normalisoidut kalsiumionipitoisuudet. Pystyakseli kuvaa ainoastaan avonäytteenottotekniikoiden (B ja C) normalisoidun pitoisuuden erotusta saman näytesarjan vakuuminäytteestä (A).

Kuviosta 1 huomataan, että yhdenkään näytesarjan kohdalla ei ylitetä ISLABin potilasvertailu- ja kontrollinäytteille asettamia $\pm 0,05$ mmol/l toistettavuusrajoja.

Nämä rajat merkitsevät sitä, että vertailu- ja kontrollituloksille sallitaan 0,05 mmol/l vaihtelu toistettaessa mittausta. Kontrollin vaihtelu heijastuu suoraan tutkittavien potilasnäytteiden tuloksiin, jolloin saadun tuloksen ero todellisesta saa olla niissä yhtä suuri. Kuviosta 1 nähdään, että keskihajonta on hyvin pieni, joten tuloksia voidaan pitää toistettavina tämän otosjoukon osalta. Avonäytteenottotekniikoiden (B ja C) pitoisuuksien erotus vakuuminäytteenottotekniikkaan (A) on keskiarvoltaan noin 0,01 mmol/l sekä huoneenlämpöiseen (B) että jäähdytettyyn putkeen (C) otettuna. Jäähdytettyyn ja huoneenlämpöiseen putkeen otettujen näytteiden tuloksissa ei nähdä selkeää keskinäistä eroa verrattuna vakuuminäytteeseen.

IFCC:n suosituksen mukaan aktuaali ja normalisoitu kalsiumionipitoisuus saavat poiketa toisistaan enintään 2 %, jotta määritystä voidaan pitää analysointikelpoisena. (Burnett ym. 2000, 1307.) Tämän poikkeaman suuruus riippuu aktuaalin pH:n ja normalisointiin käytettävän pH:n (7,4) erotuksen suuruudesta. Kuviossa 2 pystyakseli kuvaa aktuaalin ja normalisoidun kalsiumionipitoisuuden prosentuaalista eroa.

Kuviosta 2 huomataan, että käytetyn otosjoukon näytteistä vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otetut näytteet ylittävät useimmin IFCC:n suosittelman kahden prosentin rajan. Jäähdytettyyn (C) ja huoneenlämpöiseen putkeen (B) otettujen näytteiden tuloksissa ei nähdä selkeää eroa. Kuitenkin vuorokauden yli määritystä odottaneissa avonäytteissä (12–15), varsinkin jäähdytettuihin putkiin otetuissa, näytteiden pH:n vaikutus aktuaalin ja normalisoidun kalsiumionin pitoisuuden erotukseen ovat jopa vakuuminäytteitä (A) pienemmät. Eri näytteenottotekniikoiden vaikutus ei ole yhdenmukaista näytesarjojen välillä.

Näytesarjojen pH-arvoja tarkasteltaessa huomataan, että avotekniikoilla otettujen näytteiden (B ja C) pH-arvot poikkeavat vakuuminäytteestä (A) pääasiallisesti enemmän kuin ISLABin käyttämien potilasvertailu- ja kontrollinäytteiden toistettavuusrajat sallivat (kuvio 3). Poikkeamien suuruus ei tässäkään ole säännönmukaista eri näytesarjojen välillä. Muun muassa Endresin ja Ruden (2001, 800–801) mukaan puna- ja valkosolujen metabolia vaikuttavaa näytteen pH-arvoon *in vitro*, joten tutkittujen näytesarjojen erot voisivat johtua osittain näytteen solukonsentraatioista. Koska näytteenoton ajallinen kesto oli kaikissa

näytesarjoissa avonäytteenottotekniikoiden (B ja C) osalta lähes vakio, sen ei voida olettaa vaikuttavan kovinkaan paljon näytesarjojen välisiin eroihin. Kuten kuvioista 1 huomataan, että tämän suuruiset pH-arvojen erot eivät kuitenkaan aiheuta toistettavuusrajojen ylityksiä normalisoiduissa kalsiumionipitoisuuksissa. Liitteessä 5 on taulukoitu näytteiden normalisoitujen kalsiumionipitoisuuksien lisäksi aktuaaliset pitoisuudet. Myöskään aktuaalipitoisuuksissa ei huomata yli 0,05 mmol/l poikkeamia. Endresin ja Ruden (1999, 1396) mukaan pH:n muuttumisella on erittäin suuri vaikutus ionisoituneen kalsiumin sitoutumisessa proteiineihin, ja jo 0,1 pH-yksikön muutos on merkittävä kalsiumionin mitattavaan pitoisuuteen. Tämän tutkimuksen tuloksien perusteella avonäytteenottotekniikan aiheuttamat pH-muutokset eivät kuitenkaan ole niin suuria, että ne vaikuttaisivat merkittävästi kalsiumionipitoisuuksiin.

Vuorokauden yli säilytettyjen näytesarjojen (näytesarjat 12–15) pH-arvojen mittaustuloksista huomataan, että niissä on selkeitä eroja näytteenottopäivänä määritettyjen näytesarjojen mittaustuloksiin. Pidemmän säilytyksen jälkeen määritetyissä näytesarjoissa huomataan eri tekniikoilla otettujen näytteiden pH-arvojen olevan toisiaan lähempänä. Ne pysyvät ISLABin toistettavuusrajoissa tai todella lähellä niitä. Erityisesti jäähdytettyyn putkeen otettujen avonäytteiden (C) pH-arvo on lähellä saman näytesarjan vakuuminäytettä (A). Vuorokauden yli kestäneessä säilytyksessä avo- ja vakuuminäytteenottotekniikoilla otettujen näytteiden pH-arvojen erot näyttäisivät siis tasoittuvan.

Tässä opinnäytetyössä saadut tulokset eivät ole otosjoukon pienuuden ja eityypillisen kohderyhmän vuoksi täysin sovellettavissa kliiniseen laboratoriotoimintaan.

8.2 Opinnäytetyön luotettavuus

Tutkimuksen luotettavuutta tarkastellaan yleensä validiteetin ja reliabiliteetin avulla. Ensimmäisellä tarkoitetaan tutkimuksen kykyä antaa vastaus esitettyihin tutkimuskysymyksiin ja kuinka aiempi teoria on onnistuttu siirtämään omaan tutkimukseen. Reliabiliteetilla taas tarkoitetaan tutkimuksen toistettavuutta. Reliabelius on silloin hyvä, kun tutkimusta toistettaessa saadaan jatkuvasti toisi-

aan vastaavia tuloksia. (Vilkkä 2007, 149–152.) Tässä opinnäytetyössä teoriakehyksen pohjalta saadaan kuva tutkittavan ongelman lähtökohdista ja perusteluja kaikkiin eri analyysivaiheiden toimintatapoihin. Teoriaa kerrotaan myös kalsiumin kliinisen merkityksen osalta, jolloin myös lukija saa kuvan kalsiumionitutkimuksen tärkeydestä lääketieteessä.

Näytteenottovaiheen luotettavuutta pyrittiin lisäämään käymällä suoritus läpi vaihe vaiheelta ennen varsinaista tutkimukseen käytettävien näytteiden ottamista. Tällä pyrittiin poistamaan näytteenotosta johtuvat virheet ja poikkeamat. Tässä valmisteluvaiheessa kirjattiin laboratoriopäiväkirjaan mahdolliset ongelmat ja sujuvimmat toimintatavat. Hyvä esivalmistelu teki näytteenottovaiheesta sujuvan. Ainoastaan näytesarja 6 jouduttiin hylkäämään epäonnistuneen näytteenoton vuoksi. Kaikki määritettäväksi päätyneet näytteet otettiin ISLABin hyväksymien ionisoitunutta kalsiumia koskevien näytteenotto-ohjeiden mukaisesti. Poikkeamien ja sattumien poistaminen lisää tutkimuksen reliabiliteettia (Valli 2001, 92).

Pitoisuuksien määrittämiseen käytetty Rapidlab 1265-verikaasuanalysaattori oli tutkimuksen tekijöille entuudestaan tuttu, mutta laitteen käyttöön saatiin vielä perehdytys sairaalakemistiltä. Kaikki näytteet määritti yksi henkilö, joten työskentelytavoista johtuvat virheet saatiin myös eliminoidua. Laitteen käytössä noudatettiin tarkasti ISLABin menetelmäohjeita. Myös määritettäessä näytteitä käytössä oli laboratoriopäiväkirja, johon merkittiin mahdolliset poikkeamat näytteissä ja työskentelyssä. Kaikki näytteet saatiin kuitenkin määritettyä ilman virheitä. Analysaattori oli hyväksytysti kontrolloitu ja kalibroitu ennen näytteiden analysointia. Tästä johtuen myös laitevirheet voitiin poissulkea. ISLABin käyttämien verikaasuanalysaattoreiden kontrollivertailut löytyvät liitteestä 3.

Työn reliabiliteettia vähentää otosjoukon pienuus. Näin pienellä otoksella kysymys saattaa olla jopa sattumasta. Saatujen näytteiden pitoisuudet olivat kaikki kalsiumionille määritettyjen viiterajojen sisällä. Jos näytteet olisivat sairailta ihmisiltä, tutkimuksessa mitattujen parametrien muutokset saattaisivat olla erisuuruisia ja erisuuntaisia.

Tutkimussuunnitelmaa lähdettiin rakentamaan aiemman teorian pohjalta, ja tutkimuksen antamien tulosten pohdinnassa pyrittiinkin huomioimaan kaikki vaihtoehtoisten näytteenottotekniikoiden väliset mahdolliset muuttujat. Koska kaikki analyysivaiheet olivat huolellisesti suunniteltuja ja suoritettuja, tuloksiksi saatiin luotettavat ja tarkasti asetettuihin tutkimuskysymyksiin vastaavat tulokset. Tutkimusta voidaan pitää validina.

Opinnäytetyössä käytettyä teorial tietoa on pyritty etsimään mahdollisimman uusista ja tämänhetkisen tiedon mukaisista lähteistä. Käytetyt lähteet perustuvat aiempiin tutkimuksiin, ja ne ovat kliinisen kemian alalla paljon käytettyjä tiedonlähteitä. Uusia, ajankohtaisia ja aiempiin tutkimuksiin perustuvia lähteitä voidaan pitää hyvinä ja luotettavina. Vanhempien lähteiden käyttöä on pidetty perusteltuna, jos tieto ei vanhene (Soininen 1995, 55). ISLABin ohjekirjaa on käytetty lähteenä, koska tutkimuksessa vertailtavien avonäytteenottotekniikan aiheuttamia muutoksia vertaillaan ISLABin käytössä olevaan näytteenottomenettelmään.

8.3 Opinnäytetyön eettisyys

Terveys- ja sosiaalihuollossa toimitaan yleisesti sillä periaatteella, että jokaisella ihmisellä on oikeus hyvään ja tasa-arvoiseen hoitoon. Tähän ei saa vaikuttaa henkilön ikä, asuinpaikka, sosiaalinen asema, äidinkieli, etninen tausta tai muutkaan vastaavat asiat. Potilas on myös itse oikeutettu päättämään hoidostaan ja saamaan häntä itseään koskevia tietoja. Eettisyyteen liitetään myös hoitohenkilöiden ammattitaito, jota heillä on oikeus ja velvollisuus kehittää jatkuvasti parhaan mahdollisen hoidon mahdollistamiseksi. (Lehto ym. 2008, 132.)

Myös kliinisessä laboratoriossa jokaisen työvaiheen on tapahduttava potilaan oikeuksia ja hänen hyvinvointiaan kunnioittaen. Alan kehittyessä on bioanalytiikon kehitettävä omaa osaamistaan niin käytännön työskentelyn kuin uusien standardien, säädösten ja suositustenkin osalta. Eettiseen toimintaan kuuluu tärkeänä osa-alueena myös salassapito ja potilaan yksityisyyden suoja. (Lehto ym. 2008, 133.) Tätä ohjaa laki potilaan asemasta ja oikeuksista.

Terveystieteiden ammattihenkilö tai muu terveystieteiden toimintayksikössä työskentelevä taikka sen tehtäviä suorittava henkilö ei saa ilman potilaan kirjallista suostumusta antaa sivulliselle potilasasiakirjoihin sisältyviä tietoja. Jos potilaalla ei ole edellytyksiä arvioida annettavan suostumuksen merkitystä, tietoja saa antaa hänen laillisen edustajansa kirjallisella suostumuksella. Sivullisella tarkoitetaan tässä laissa muita kuin asianomaisessa toimintayksikössä tai sen toimeksiannosta potilaan hoitoon tai siihen liittyviin tehtäviin osallistuvia henkilöitä. Salassapitovelvollisuus säilyy palvelussuhteen tai tehtävän päättymisen jälkeen. (Laki potilaan asemasta ja oikeuksista 785/1992, § 13.)

Sosiaali- ja terveystieteiden yhteisiin eettisiin periaatteisiin kuuluu myös eri tahojen yhteistyö. Toiminnassa on pyrittävä pitämään yllä hyviä suhteita muihin ammattiryhmiin. Bioanalytiikan osalta yhteistyöhön kuuluu muun muassa ohjata ja neuvoa asiantuntijana muita ammattiryhmiä laboratoriotutkimuksiin liittyvissä asioissa. (Lehto ym. 2008, 132–133.) Opinnäytetyössä yhteistyötä tehtiin toimeksiantajan kanssa.

Opinnäytetyössä tutkitut näytteet saatiin bioanalytiikan koulutusohjelman vapaaehtoisilta opiskelijoilta. Opiskelijoille kerrottiin ennen näytteiden ottoa siihen liittyvistä asioista, kuten otettavien näytteiden määrästä, näytteenotosta johtuvista riskeistä ja näytteiden käyttötarkoituksesta.

Ennen varsinaista näytteenottoa näytteenottoprosessi käytiin läpi kohta kohdalta ja harjoiteltiin itse suoritusta, jotta näytteenotto olisi sujuvaa ja turvallista. Opiskelijoiden yksityisyydensuojan varmistamiseksi näytteet numeroitiin ja opiskelijoiden henkilötietoja ei käytetty tutkimuksen missään vaiheessa, koska näillä tiedoilla ei ollut merkitystä tutkimuksen kannalta. Analysoinnin jälkeen näytteet hävitettiin ISLABin ohjeistuksen mukaisella tavalla.

Myös itse tutkimusraportissa on pyritty hyvään eettisyyteen. Tutkimusraportti on kirjoitettu rehellisesti tapahtumien todellisen kulun mukaisesti. Tutkimustulokset on ilmoitettu niitä muokkaamatta, ja kaikki mitatut tulokset on esitetty. Tutkimusraportti on myös kirjoitettu ilmaisutyyliltään mahdollisimman neutraaliksi, jottei sillä loukattaisi näytteitä antaneita henkilöitä, aiempia tutkimuksia eikä tutkimus-alaa yleisestikään. Myös lähteet ja lainaukset on merkitty asiallisesti tekijöiden asiantuntemusta ja työtä kunnioittaen.

8.4 Johtopäätökset

Tuloksista huomataan, että näytteenottotekniikoista aiheutuvat erot ovat kalsiumionipitoisuuksien osalta erittäin pienet niin aktuaalisissa kuin normalisoiduissakin kalsiumionipitoisuuksissa. Kaikkien näytesarjojen sisäiset pitoisuus-erot ovat pieniä ja pysyvät ISLABin kontrollien toistettavuusrajojen ($\pm 0,05$ mmol/l) sisällä. Tämän suuruista vaihtelua todellisesta pitoisuudesta saa esiintyä myös potilasnäytteissä. Avonäytteenottotekniikalla otetut näytteet (B ja C) voitaisiin hyväksyä, jos niitä vertaillaan vakuuminäytteenottotekniikalla otettuihin näytteisiin (A) toistettavuuden näkökulmasta. Jos näyte määritettäisiin tietämättä näytteenottotekniikkaa, tuloksista ei voitaisi huomata, mitä näytteenottotekniikkaa on käytetty. Avonäytteenottotekniikoilla otettujen näytteiden (huoneenlämpöinen B ja jäähdytetty C putki) välillä on vain pieniä eroja.

Kaikissa näytesarjoissa avo- (B ja C) ja vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otettujen näytteiden pH-arvot eroavat selkeästi. Kun käsitellään näytesarjan näytteiden keskinäisiä pH-eroja toistettavuutena, huomataan, että ISLABin asettama pH-arvojen toistettavuusraja ($\pm 0,02$ yksikköä) ylitetään lähes kaikissa näytesarjoissa. pH-arvojen erot eivät kuitenkaan ole niin suuria, että niiden vaikutusta voitaisiin havaita normalisoiduissa tai aktuaalisissa kalsiumionipitoisuuksissa. Myöskään jäähdytettyihin (C) ja huoneenlämpöisiin (B) putkiin otettujen näytteiden välillä ei pH-arvojen osalta huomattu selkeitä näytesarjojen sisäisiä eroja. Kuitenkin vuorokauden ylitse määritystä odottaneissa näytesarjoissa jäähdytettyyn putkeen otettu näyte (C) käyttäytyi enemmän vakuuminäytteen (A) kaltaisesti kuin huoneenlämpöiseen putkeen (B) otettu näyte. Näiden näytesarjojen

näytteiden keskinäiset pH-arvojen erot olivat kokonaisuudessaankin pienemmät kuin näytteenottopäivänä määritetyissä näytesarjoissa.

IFCC:n suosittamaa ± 2 %:n eroa aktuaalin ja normalisoidun kalsiumionipitoisuuden välillä ei voida käyttää hyväksi tutkimuskysymyksiin vastattaessa. Kuviosta 2 huomataan, että mitatuista näytteistä vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otetut ylittivät suosituksen rajat useammin kuin avonäytteenottotekniikalla (B ja C) otetut näytteet.

Tutkitun otosjoukon näytteet olisivat hyväksyttävissä näytteenottotekniikasta riippumatta. Kun tarkastellaan kaikkia seerumin ionisoituneen kalsiumin tutkimuksissa yleisesti käytettäviä parametreja voidaan todeta, että eri näytteenottotekniikoiden väliset tuloserot ovat todella pieniä. Tämän tutkimuksen perusteella avonäytteenottotekniikan (B ja C) käyttämiselle ei ole kalsiumionitutkimuksen kohdalla estettä.

Putken viilentämisellä ei avonäytteenottotekniikkaa (B ja C) käytettäessä huomata olevan selkeää vaikutusta kalsiumionipitoisuuden mittaustuloksiin. Vuorokauden ajan määritystä odottaneissa jäähdytettyihin putkiin (C) otetuissa näytteissä mitatut tulokset olivat lähempänä vakuuminäytteenottotekniikalla (A) otettujen näytteiden tuloksia kuin huoneenlämpöiseen putkeen (B) otetuissa näytteissä. Tällä tutkimusasetelmalla ei voida selvittää syytä tähän eroavaisuuteen.

Opinnäytetyön tulokset eivät otosjoukon pienuuden vuoksi ole täysin hyödynnettävissä kliinisessä laboratoriotoiminnassa. Todetut eri tekniikoiden erot ovat kuitenkin niin pieniä, että hätätilanteessa avonäytteenottotekniikkaa voitaisiin kenties käyttää kaikissa tutkimusta suorittavissa kliinisen kemian laboratorioissa. Tämä opinnäytetyö toimii kuitenkin hyvänä pilottitutkimuksena mahdolliselle suuremman otosjoukon tutkimukselle.

Opinnäytetyötä ohjannut ISLABin sairaalakemisti ilmoitti esittelevänsä tutkimuksen tulokset ISLABin kokouksessa 19.11.2012. Kokouksessa päätetään tämän tutkimuksen aiheuttamista mahdollisista jatkotoimenpiteistä.

8.5 Jatkotutkimusaiheet

Tämä tutkimus osoittaa avotekniikan olevan käyttökelpoinen seerumin ionisoituneen kalsiumin tutkimuksessa. Käytetty otosjoukko ei kuitenkaan edusta tutkimuksen normaalia kohderyhmää, koska tutkittujen näytteiden kalsiumionipitoisuudet ovat yleisesti käytössä olevien pitoisuuden viitearvojen sisällä. Otosjoukon koko ei myöskään ole riittävän suuri, jotta tutkimus olisi täysin luotettava. Jatkotutkimuksena kannattaisi miettiä tämän tutkimuksen toistamista oikeilla potilasnäytteillä ja suuremmalla otoksella.

Koska avonäytteen ottamisella viilennettyyn putkeen (C) huomattiin olevan kalsiumionipitoisuuden osalta positiivinen vaikutus pitkäkestoisempaan säilytykseen, tätäkin havaintoa olisi mielenkiintoista tutkia enemmän. Tutkimusta voitaisiin soveltaa mahdollisesti avonäytteen ohella myös vakuuminäytteenottotekniikalla otettuihin näytteisiin.

8.6 Opinnäytetyö oppimisprosessina

Opinnäytetyö lisäsi ennen kaikkea tiedonhankintataitojamme. Ajankäytöllisesti syiden ja seurausten etsiminen kirjallisuudesta ja muista tietolähteistä oli suurimpia ja haastavimpia osia opinnäytetyöprosessissa. ATK-taidoista kehittyivät taulukko- ja tekstinkäsittelyohjelmien käyttö. Vieraskielisiin lähteisiin tutustuminen kehitti kielitaitoamme.

Tulevaan ammattiimme liittyvissä asioissa avonäytteenottotaitomme kehittyi todella paljon. Tutkimusprosessin suunnittelu syvensi ymmärrystä laboratorio- tutkimusprosessista kokonaisuutena. Opinnäytetyön suunnitelmassa oli ajateltava kaikkia eri analyysivaiheiden osioita toimivan näytteenottopisteen suunnittelusta tulosten julkaisemiseen. Asiantuntijuutemme kehittyi selkeästi ionisoituneen kalsiumin lisäksi verikaasuanalysaattoreiden käytössä ja niiden toiminnan ymmärtämisessä.

Lähteet

- Bjålie, J. G., Haug, E., Sand, O., Sjaastad, Ø. V. & Toverud, K. C., 2011. Ihminen, Fysiologia ja anatomia. Helsinki: WSOYpro.
- Burnett, R.W., Christiansen, T.F., Covington, A.K., Fogh-Andersen, N., Külpmann, W.R., Lewenstam, A., Maas, A.H.J., Müller-Plathe, O., Sachs, C., Andersen, O.S., VanKessel, A.L. & Zijlstra, W.G. 2000. IFCC Recommended Reference Method for the Determination of the Substance Concentration of Ionized Calcium in Undiluted Serum, Plasma or Whole Blood. Teoksessa Plebani, M. (toim.) 2005. Clinical chemistry and laboratory medicine. Kansainvälinen: Clinical chemistry and laboratory medicine, 1301-1314.
- Duodecim. 2010. Hypokalsemia, hypoparatyreoosi ja D-vitamiinin puute. Duodecim.
http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/avaa?p_artikkeli=ykt00579.
23.7.2012.
- Endres, D. E. & Rude, R. K., 1999. Mineral and bone metabolism. Teoksessa Ashwood, E. R. & Burtis, C. A. (toim.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia: W.B. Saunders company, 1395-1457.
- Endres, D. E. & Rude, R. K., 2001. Mineral and bone metabolism. Teoksessa Ashwood, E. R. & Burtis, C. A. (toim.) Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry. Philadelphia: W.B. Saunders company, 795-822.
- Freese, R. & Voutilainen, E., 2012. Vitamiinit ja kivennäisaineet sekä muut ravinnon yhdisteet. Teoksessa Aro, A., Mutanen, M. & Uusitupa, M. (toim.) Ravitsemustiede. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 88-165.
- Holopainen, M. & Pulkkinen, P. 2008, Tilastolliset menetelmät. Helsinki: WSOY.
- ISLAB 2012. Itä-Suomen laboratoriokeskuksen web-ohjekirja. ISLAB.
<https://ekstra1.kuh.fi/csp/islabohje/labohje.csp?indeksi=3044>.
17.8.2012.
- Kauppinen-Mäkelin, R. 2010. Hyperkalsemia ja hyperparatyreoosi. Duodecim.
http://www.terveysportti.fi/dtk/ltk/avaa?p_artikkeli=ykt00580.
23.7.2012.
- Koivu, M. 2006. Ääreishermojen ja lihasten anatomia ja fysiologia. Teoksessa Falck, B., Hasan, J., Jäntti, V., Partanen, J., Salmi, T. & Tolonen, U. (toim.) Kliininen neurofysiologia. Helsinki: Duodecim, 383-391.
- Labquality 2012. Hapto-emästase ja elektrolyytit. <http://www.labquality.fi/laatu-ulkoinen-laadunarviointi/kierroskuvaukset/kliininen-kemia-11-erikoiskemia/hapto-emastase-ja-elektrolyytit>. 25.9.2012.
- Laitinen, M. 2004a. Analytiikan ja vierianalytiikan virhelähteet. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 32-34.
- Laitinen, M. 2004b. Elektrokemialliset menetelmät. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 77-79.
- Laki potilaan asemasta ja oikeuksista 785/1992.
- Lassila, R. 2007. Veren hyytyminen ja fibrinolyysi. Teoksessa Ruutu, T., Rajamäki, A., Lassila, R. & Porkka, K. (toim.) Veritaudit. Helsinki: Duodecim, 32-44.

- Lehto, L., Rautajoki, A. & Tuokko, S. 2008. Kliiniset laboratorionäytteet – Opas näytteiden ottoa varten. Helsinki: Tammi.
- Liimatainen, O. 2010. Laboratorioprosessin laatu; mistä elementeistä laatu koostuu. Moodi 34 (1). Helsinki: Labquality Oy, 57-58.
- Linko, S. 2004. Kontrollien merkityksestä käytännön laboratoriotyössä. . Moodi 28 (2). Helsinki: Labquality Oy, 60-62.
- Markkanen, H., 2000. Preanalytiikan yleisimpiä virhelähteitä ja mihin toiminnan parantamisessa tulisi kiinnittää huomiota. Moodi 24 (6). Helsinki: Labquality Oy, 172-175.
- Matikainen, A-M., Miettinen, M. & Wasström, K. 2010. Näytteenottajan käsikirja. Helsinki: Edita Prima Oy.
- Metsävainio, K., Romppanen, J. & Väisänen, S. 2006. Preanalyttisistä virhetekijöistä verikaasuanalysaattoreilla tehtävissä analyyseissä. Finnanest.
- Mutanen, M. & Voutilainen, E. 2005. Vitamiinit ja kivennäisaineet. Teoksessa Aro, A., Mutanen, M. & Voutilainen, E. (toim.) Ravitsemustiede. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim, 144-215.
- Mättö, M. 2010. Siemens Rapidlab 1265 ja 1260 verikaasuanalysaattorin käyttöohje_ISLAB.
- Penttilä, I. 2004a. Aineenvaihdunnan häiriöt ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 119-142.
- Penttilä, I. 2004b. Elektrolyytti- ja happo-emästasapaino sekä nesteaitiot ja niiden tutkiminen. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 152-166.
- Penttilä, I. 2004c. Tutkimustulosten laatu ja laadunvarmistus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 35-39.
- Saha, H. 2001. Milloin tarvitaan kalsiumin määritystä? Suomen lääkirlehti 54 (4), 405-407
- Savolainen, K. & Simonen, M. 2011. Osaamisaluekuvaus: Verikaasut.
- Sinervo, T. 2011. Miten varmistaa laboratorion hyvä laatu nyt ja tulevaisuudessa. Labquality.
http://www.labquality.fi/@Bin/2306799/Tuija+Sinervo_Jatkuva+parantaminen.pdf. 25.8.2012.
- Soininen, M. 1995. Tieteellisen tutkimuksen perusteet. Turku: Turun yliopiston täydennyskoulutuskeskus.
- Tapola, H. 2004. Näytteiden käsittely ja lähettäminen sekä kuljetus. Teoksessa Penttilä, I. (toim.) Kliiniset laboratoriotutkimukset. Porvoo: WSOY, 29-31.
- Terveiden ja hyvinvoinnin laitos 2005. Menetelmät, menetelmien validointi ja mittausten jäljitettävyyys. Kansanterveyslaitoksen julkaisuja B.
http://www.ktl.fi/portal/suomi/julkaisut/julkaisusarjat/kansanterveyslaitoksen_julkaisuja_b/hyva_tutkimustapa_ktl_ssa/b-osa__eraiden_tutkimustyyppien_erityispiirteet/14_kliinisten_naytetutkimuksien_erityispiirteet/14.3_luotettavalle_laboratoriotoiminnalle_asetettavat_vaatimukset/14.3.4_menetelmat,_menetelmien_validointi_ja_mittausten_jaljitettavyys/. 21.8.2012.
- Valli, R. 2001. Johdatus tilastolliseen tutkimukseen. Jyväskylä: PS-kustannus.
- Vilkka, T. 2007. Tutki ja mittaa. Jyväskylä: PS-Kustannus.

Väisänen, S. 2008. Preamalyttiset sudenkuopat verikaasunäytteiden käsittelyssä ja kuinka ne vältetään. Moodi 28 (1). Helsinki: Labquality Oy, 69.

Opinnäytetyön toimeksiantosopimus



OPINNÄYTETYÖN TOIMEKSIAOTOSOPIMUS

Toimeksiantaja	
Organisaation nimi:	<i>ISLAB</i>
Toimeksiantajan edustaja:	<i>Martha Simonen</i>
Osoite:	<i>Tikkaaentie 16 80210 Jorvenmäki</i>
Puhelinnumero:	
Sähköposti:	
Opiskelijan/opiskelijoiden tiedot	
Koulutusohjelma:	<i>Biologian koulutusohjelma</i>
Opiskelijanumero(t) ja nimi(et):	<i>Toni Mononen 0900853 Antti Juntti 0900969</i>
Puhelinnumero:	<i>0442746712</i>
Sähköposti:	<i>toni.mononen@edu.phamk.fi</i>
Toimeksiantajan sitoumukset	
<i>Lupa käyttää Rapilab 1265 verkkoalustetta opinnäytetyön aikana tehtävien analysointiin.</i>	
Opiskelijan sitoumukset	
<i>Antavat tulleiset ISLAB:n käyttöön. 1 kpl opinnäytetyöstä.</i>	
Opinnäytetyön ohjaus PKAMK:ssa	
Ohjaaja(t): <i>Minna Räsänen</i> <i>Elena Lyötkäinen</i>	
Opinnäytetyön julkisuus	
Opinnäytetyö on julkinen asiakirja ja se voidaan julkaista Theseus-verkkokirjastossa.	
Allekirjoitukset	
Päiväys	Opiskelijan allekirjoitus ja nimenselvennys
<i>27.8.2012</i>	<i>Toni Mononen</i>
Päiväys	Toimeksiantajan edustajan allekirjoitus ja nimenselvennys
<i>27.8.2012</i>	<i>Martha Simonen</i>

Tutkimuslupahakemus

POHJOIS-KARJALAN
AMMATTIKORKEAKOULU

TUTKIMUSLUPAHAKEMUS

Haen/haemme lupaa suorittaa opinnäytetyöhön liittyvä tutkimus

Opinnäytetyön aihe: Vakuumi- ja avonäytteenottotekniikan vertailu serumien ionisoituneen kalsiumin määrittelyssä

Tutkimuksen toteutuspaikka/-yksikkö:

Isolab Kemian laboratorio Joensuun yksikö

Tutkimuksen:

a) kohde/kohdejoukko: lupa laboratorion laitteiden käyttöönb) aineiston keruumenetelmä: —c) aineiston keruun ajankohta: 12-13.9.2012

Opinnäytetyön ohjaaja/t:

Minna RieheläHyttiäinen Elina

Työelämäohjaaja:

Maritta Simonen27.8.2012Toni MononenAuli Järvi

LIITTEET:

- tutkimussuunnitelma
- toimeksiantosopimus

PÄÄTÖS

Hakemus on hyväksytty

27.8.2012_____

Matti Rautiainen

ISLABin verikaasuanalysaattoreilla tehtävien potilasvertailujen ja AQC-kontrollien rajat.



ITÄ-SUOMEN LABORATORIOKESKUKSEN
LIIKELAITOSKUNTAYHTYMÄ

TYÖOHJE

8(8)

Käytössä alkaen 3.10.2011

OA-kuvaus verikaasut.doc

Liite 3. Verikaasuanalysaattoreilla tehtävien potilasnäytevertailujen ja AQC -kontrollien rajat

Parametri	Yksikkö	Potilasnäytteet	AQC-kontrollit	Akkreditoidut menetelmät:
		\pm	\pm	AQC-kontrollien
pH	pH-yksikkö	0,02	0,02	rajat lasketaan
pCO ₂	kPa	0,3	0,3	seuraavien
O ₂	kPa	0,5	0,6	prosenttien
tHb	g/l	10	10	3 SD:t ja siitä SD
sO ₂	%	5		
Na (akkr.)	mmol/l	3		3,0 %
K (akkr.)	mmol/l	0,2		4,0 %
Gluk (akkr.)	mmol/l	0,6		6,0 %
Lakt (akkr.)	mmol/l	0,4		15 %
Calon	mmol/l	0,05	0,05	
Cl	mmol/l	3	3	
O ₂ Hb	%	2	2	
MetHb	%	2	2	
CoHb	%	2	2	
ctBil	μmol/l	10	10	

ISLABin käytössä olevien verikaasuanalysaattoreiden kontrollivertailu**VAKIORAPORTTI**

ISLAB

Näyte: JS-VERIKAASUVERTAILU 1

Aikaväli: 10.09.2012 - 10.09.2012

Tutkimus Laite	TA	s	Lkm	Keskiarvo	CV%
----------------	----	---	-----	-----------	-----

P -Ca-ionA 50097

RAPIDLAB 1265 JS TEHO			1	0.780	0.000
RAPIDLAB 1265 JS 1 ASKO			1	0.780	0.000
RAPIDPOINT 500 JS OS2			1	0.840	0.000
			Yhteensä 3	0.800	4.330

ISLAB

Näyte: JS-VERIKAASUVERTAILU 2

Aikaväli: 12.09.2012 - 12.09.2012

P -Ca-ionA 50097

RAPIDLAB 1265 JS TEHO			1	1.020	0.000
RAPIDLAB 1265 JS 1 ASKO			1	1.030	0.000
RAPIDPOINT 500 JS OS2			1	1.080	0.000
			Yhteensä 3	1.043	3.081

ISLAB

Näyte: JS-VERIKAASUVERTAILU 3

Aikaväli: 14.09.2012 - 14.09.2012

Tutkimus Laite	A	s	Lkm	Keskiarvo	CV%
----------------	---	---	-----	-----------	-----

P -Ca-ionA 50097

RAPIDLAB 1265 JS TEHO			1	1.050	0.000
RAPIDLAB 1265 JS 1 ASKO			1	1.050	0.000
RAPIDPOINT 500 JS OS2			6	1.050	0.000
			Yhteensä 8	1.050	0.000

Tulostaulukot

Näytteenottopäivänä analysoidut näytteet					
Näyte	Näytteenotto- tekniikka	pH	Aktuaali pitoisuus	Normalisoitu pitoisuus	Aktuaalin - ja normalisoidun pitoisuuden erotus %:na
1	a	7,33	1,24	1,21	2,4
	b	7,35	1,23	1,21	1,6
	c	7,36	1,22	1,20	1,6
2	a	7,34	1,23	1,20	2,4
	b	7,38	1,21	1,20	0,8
	c	7,38	1,22	1,21	0,8
3	a	7,31	1,28	1,24	3,1
	b	7,32	1,27	1,23	3,1
	c	7,32	1,27	1,23	3,1
4	a	7,36	1,24	1,22	1,6
	b	7,36	1,24	1,22	1,6
	c	7,35	1,24	1,22	1,6
5	a	7,30	1,23	1,18	4,1
	b	7,32	1,22	1,18	3,3
	c	7,34	1,22	1,19	2,5
6	a	-	-	-	-
	b	-	-	-	-
	c	-	-	-	-
7	a	7,38	1,22	1,21	0,8
	b	7,44	1,21	1,23	-1,7
	c	7,43	1,21	1,23	-1,7
8	a	7,33	1,21	1,18	2,5
	b	7,38	1,21	1,20	0,8
	c	7,39	1,21	1,20	0,8
9	a	7,36	1,25	1,23	1,6
	b	7,39	1,24	1,24	0,0
	c	7,40	1,23	1,23	0,0
10	a	7,37	1,22	1,20	1,6
	b	7,44	1,20	1,22	-1,7
	c	7,43	1,20	1,22	-1,7
11	a	7,35	1,25	1,23	1,6
	b	7,39	1,24	1,24	0,0
	c	7,38	1,24	1,23	0,8

24 tunnin kuluttua analysoidut näytteet					
Näyte	Näytteenotto- tekniikka	pH	Aktuaali pitoisuus	Normalisoitu pitoisuus	Aktuaalin - ja normalisoidun pitoisuuden erotus %:na
12	a	7,38	1,22	1,19	2,5
	b	7,37	1,22	1,20	1,6
	c	7,35	1,23	1,21	1,6
13	a	7,37	1,23	1,21	1,6
	b	7,38	1,23	1,22	0,8
	c	7,37	1,23	1,21	1,6
14	a	7,36	1,20	1,18	1,7
	b	7,40	1,19	1,18	0,8
	c	7,37	1,18	1,18	0,0
15	a	7,35	1,22	1,19	2,5
	b	7,38	1,23	1,22	0,8
	c	7,37	1,23	1,22	0,8

Näyte	Näytteenotto- tekniikka	Normalis oitu pitoisuus	Pitoisuus ien erotus a-b	Pitoisuuksien erotus a-c
1	a	1,21	0,00	0,01
	b	1,21		
	c	1,20		
2	a	1,20	0,00	-0,01
	b	1,20		
	c	1,21		
3	a	1,24	0,01	0,01
	b	1,23		
	c	1,23		
4	a	1,22	0,00	0,00
	b	1,22		
	c	1,22		
5	a	1,18	0,00	-0,01
	b	1,18		
	c	1,19		
6	a			
	b			
	c			
7	a	1,21	-0,02	-0,02
	b	1,23		
	c	1,23		
8	a	1,18	-0,02	-0,02
	b	1,20		
	c	1,20		
9	a	1,23	-0,01	0,00
	b	1,24		
	c	1,23		
10	a	1,20	-0,02	-0,02
	b	1,22		
	c	1,22		
11	a	1,23	-0,01	0,00
	b	1,24		
	c	1,23		
12	a	1,19	-0,01	-0,02
	b	1,20		
	c	1,21		
13	a	1,21	-0,01	0,00
	b	1,22		
	c	1,21		
14	a	1,18	0,00	0,00
	b	1,18		
	c	1,18		
15	a	1,19	-0,03	-0,03
	b	1,22		
	c	1,22		

Kopio laboratoriopäiväkirjaan kirjatusta tuloksista

	pH	norm	aktiivisuus	titrimus
1 A	7,352	1,21	1,24	
1 D	7,352	1,21	1,23	
2 A	7,335	1,20	1,23	
2 D	7,335	1,20	1,23	
3 A	7,314	1,21	1,24	
3 D	7,316	1,23	1,27	
4 A	7,361	1,22	1,24	
4 D	7,364	1,22	1,24	
5 A	7,299	1,18	1,23	
5 D	7,324	1,18	1,22	
6 A	7,315	1,19	1,22	
7 A	7,380	1,21	1,22	
7 D	7,440	1,23	1,21	
8 A	7,333	1,18	1,21	
8 D	7,390	1,20	1,21	
9 A	7,362	1,23	1,25	
9 D	7,394	1,24	1,24	
10 A	7,368	1,20	1,22	
10 D	7,435	1,22	1,20	
11 A	7,353	1,23	1,25	
11 D	7,391	1,24	1,24	
12 A	7,346	1,19	1,22	
12 D	7,366	1,20	1,22	
13 A	7,366	1,21	1,23	
13 D	7,368	1,21	1,23	

	pH	norm	aktiivisuus	titrimus
14 A	7,364	1,18	1,20	
14 D	7,395	1,19	1,19	
15 A	7,348	1,19	1,22	
15 D	7,377	1,23	1,23	
16 A	7,413	1,23	1,22	
16 D	7,441	1,23	1,20	
17 A	7,419	1,20	1,19	
17 D	7,477	1,21	1,17	
18 A	7,464	1,21	1,18	
18 D	7,404	1,22	1,21	
19 A	7,446	1,23	1,22	
19 D	7,429	1,23	1,22	

a) Valuun: näyte Saladin ohimen
mukaan

b) avotelmällä otettu näyte

c) avotelmällä otettu näyte
johdustetyn putkeen

2. näytteenotto
-> 0,05 g/ml kalsiumkloridi